Geo. F.
BROOKS

Karen C.
CARROLL

Janet S.
BUTEL

Stephen A.
MORSE

Timothy A.
MIETZNER

25ª edición

JAWETZ, MELNICK Y ADELBERG

Microbiología médica



A LANGE medical book

Jawetz, Melnick y Adelberg
Microbiología médica

25a. edición

Geo. F. Brooks, MD
Professor Emeritus of Laboratory Medicine and Microbiology and Immunology
University of California
San Francisco

Karen C. Carroll, MD
Professor of Pathology
The John Hopkins University School of Medicine
Director, Division Medical Microbiology
The Johns Hopkins Hospital
Baltimore

Janet S. Butel, PhD
Distinguished Service Professor
Chair, Department of Molecular Virology and Microbiology
Baylor College of Medicine
Houston

Stephen A. Morse, PhD
Associate Director for Science
Bioterrorism Preparedness and Response Program
National Center for Infectious Diseases
Centers of Disease Control and Prevention
Atlanta

Timothy A. Mietzner, PhD
Associate Professor
Department of Microbiology and Molecular Genetics
University of Pittsburgh School of Medicine
Pittsburgh
Adjunct Associate Professor of Microbiology
Arizona School of Dentistry and Oral Health Mesa

Traducción:
José Rafael Blengio Pinto
José Luis González Hernández
Ana María Pérez Tamayo Ruiz
Germán Arias Rebatet



MÉXICO • BOGOTÁ • BUENOS AIRES • CARACAS • GUATEMALA • MADRID • NUEVA YORK
SAN JUAN • SANTIAGO • SAO PAULO • AUCKLAND • LONDRES • MILÁN • MONTREAL
NUEVA DELHI • SAN FRANCISCO • SINGAPUR • ST. LOUIS • SIDNEY • TORONTO

Director editorial: Javier de León Fraga
Editor de desarrollo: Norma Leticia García Carbajal
Corrección de estilo: Gabriel González Loyola, Rita Gabriela León Jiménez, Alma Rosa Higuera
Supervisor de producción: José Luis González Huerta

NOTA

La medicina es una ciencia en constante desarrollo. Conforme surjan nuevos conocimientos, se requerirán cambios de la terapéutica. El (los) autor(es) y los editores se han esforzado para que los cuadros de dosificación medicamentosa sean precisos y acordes con lo establecido en la fecha de publicación. Sin embargo, ante los posibles errores humanos y cambios en la medicina, ni los editores ni cualquier otra persona que haya participado en la preparación de la obra garantizan que la información contenida en ella sea precisa o completa, tampoco son responsables de errores u omisiones, ni de los resultados que con dicha información se obtengan. Convendría recurrir a otras fuentes de datos, por ejemplo, y de manera particular, habrá que consultar la hoja informativa que se adjunta con cada medicamento, para tener certeza de que la información de esta obra es precisa y no se han introducido cambios en la dosis recomendada o en las contraindicaciones para su administración. Esto es de particular importancia con respecto a fármacos nuevos o de uso no frecuente. También deberá consultarse a los laboratorios para recabar información sobre los valores normales.

JAWETZ, MELNICK Y ADELBERG. MICROBIOLOGÍA MÉDICA.



Prolongación Paseo de la Reforma 1015, Torre A, Piso 17, Col. Desarrollo Santa Fe,
Delegación Álvaro Obregón
C.P. 01376, México, D.F.
Miembro de la Cámara Nacional de la Industria Editorial Mexicana, Reg. núm. 736

ISBN: 978-607-15-0503-3

Translated from the twenty-fifth English edition of: *Jawetz, Melnick, & Adelberg´s Medical Microbiology*

ISBN : 978-0-07-162496-1

1234567890 109876543210
Impreso en China Printed in China

Contenido

* Los capítulos 1 a 7 fueron editados por Stephen A. Morse de acuerdo con su criterio profesional. No debe darse por sentado respaldo o aprobación por parte de los CDC.

SECCIÓN II

INMUNOLOGÍA 121

Roderick Nairn, PhD

SECCIÓN III

BACTERIOLOGÍA 145

Geo. F. Brooks, MD y Karen C. Carroll, MD

SECCIÓN 

MICOLOGÍA 625

Thomas G. Mitchell, PhD

SECCIÓN 

PARASITOLOGÍA 665

Judy A. Sakanari, PhD y James H. McKerrow, MD, PhD

Comité asesor para la revisión científica de la edición en español

Cristina Eugenia Cabrera Alaix
Docente asistente de la Universidad Libre, seccional Cali
Docente de Inmunología y Microbiología en la Facultad de Salud. Área de Ciencias Básicas
Docente asistente en la Universidad del Valle
Docente de Inmunología en la Facultad de Salud, adscrita al Departamento de Microbiología

José Luis Sánchez Salas
Profesor del Depto. de Ciencias Químico-Biológicas
Escuela de Ciencias. Universidad de las Américas, Puebla

Patricia Tato Saldívar
Doctora en Ciencias Biomédicas
Profesora Titular B de la Facultad de Medicina, UNAM
Jefa del Departamento de Microbiología y Parasitología

Othón Rafael Cruz López
Especialidad en Microbiología Médica, Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, División de Estudios de Posgrado
MASS (Maestría en Administración de Servicios de Salud) Facultad de Medicina de la BUAP (Benemérita Universidad Autónoma de Puebla)
Profesor de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina BUAP
Profesor de Microbiología y Parasitología de la Escuela de Medicina, Universidad Autónoma de Tlaxcala
Coordinador de la Sociedad Mexicana de Parasitología AC, Sección Puebla

Paula Figueroa
Doctorado en Ciencias Químico-Biológicas
Profesora Titular del Posgrado Institucional de Biomedicina Molecular
Instituto Politécnico Nacional
Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía

Estrella Cervantes G.
Profesora de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM

Laura E. García Tovar
M.C. Microbiología Médica
Profesora Asociada. División de Ciencias de la Salud
Universidad de Monterrey

Prefacio

En la vigésima quinta edición de *Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología médica,* continúan vigentes los objetivos de la primera edición publicada en 1954: “proporcionar una fuente de información breve, concisa y actualizada de aquellos aspectos de la microbiología médica que son de particular significado para el campo de las infecciones clínicas y la farmacoterapia”. La presente edición posee nuevas características que incluyen un cambio en el formato, la adición de fotografías en color y un mayor número de preguntas de repaso nuevas y revisadas, al final de cada capítulo. Todos los capítulos se han examinado de manera amplia en concordancia con la extraordinaria expansión del conocimiento médico, que le han proporcionado los mecanismos moleculares, así como los avances en nuestra comprensión de la patogenia microbiana y el descubrimiento de nuevos microorganismos patógenos.

Por primera vez en la edición de esta obra interviene el doctor Timothy Mietzner, PhD, Profesor Asociado en el Departamento de Microbiología y Genética Molecular en la Escuela de Medicina de la Universidad de Pittsburgh. La gran experiencia en la patogenia molecular microbiana que él posee agregará una característica significativa a la presente edición, y a las subsiguientes, por lo que le damos la bienvenida a su participación.

El cambio en el uso del color en la impresión ha proporcionado la oportunidad de incluir muchas y nuevas fotografías y micrografías, así como la nueva uniformidad han dado como resultado un beneficio característico en la Sección de Bacteriología (III). La tinción de Gram se fotografió utilizando el mismo equipo de microscopio, cámara y programa computacional. Las imágenes se recortaron para la impresión en formato de figuras cuadradas a una columna. El resultado es que el tamaño relativo de la bacteria se puede comparar entre una imagen y otra. De manera que *Escherichia coli* (fig. 15-1) aparece más grande que *Haemophilus influenzae* (fig. 18-1) y *Franciscella tularensis* (fig. 18-2), en gran medida como se verían cuando se observan al microscopio. Los autores esperan que la comparación del tamaño relativo de las bacterias en las fotografías sea de utilidad para los estudiantes de microbiología.

Geo. F. Brooks,
San Francisco
Karen C. Carroll,
Baltimore
Janet S. Butel,
Houston
Stephen A. Morse,
Atlanta
marzo 2010



CAPÍTULO 1

La ciencia de la microbiología

INTRODUCCIÓN

La microbiología es el estudio de los microorganismos, grupo grande y diverso de microorganismos microscópicos que viven en forma de células aisladas o grupos de células; también comprende a los virus, que son microscópicos pero no son celulares. Los microorganismos influyen extensamente en la vida y constitución tanto física como química de nuestro planeta. Son los encargados de los ciclos de los elementos químicos indispensables para la vida, incluidos carbono, nitrógeno, azufre, hidrógeno y oxígeno; además, los microorganismos realizan más fotosíntesis que las plantas verdes. Se calcula que en la tierra existen 5×10^{30} células microbianas; excluyendo a la celulosa, éstas constituyen 90% de la biomasa de toda la biosfera. Los seres humanos tienen un relación estrecha con los microorganismos; más de 90% de las células del cuerpo corresponde a microbios.

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS ILUSTRADOS POR LA MICROBIOLOGÍA

La **diversidad biológica** es más evidente en los microorganismos que en ninguna otra parte; estas criaturas no se pueden ver a simple vista sin ayuda. En cuanto a forma y función, ya sea una propiedad bioquímica o un mecanismo genético, el análisis de los microorganismos nos lleva hasta el límite de la comprensión biológica. Por lo tanto, la necesidad de **originalidad** (una prueba del mérito de una **hipótesis** científica) se logra por completo en la microbiología. Una hipótesis útil debe ofrecer una base para hacer una **generalización** y la diversidad microbiana proporciona el terreno donde siempre existe este reto.

La **predicción**, que es la consecuencia práctica de la ciencia, es un producto creado por una mezcla de técnica y teoría. La **bioquímica**, **biología molecular** y **genética** proporcionan los recursos necesarios para el análisis de los microorganismos. A su vez, la **microbiología** amplía el horizonte de estas disciplinas científicas. Quizá un biólogo describiría este intercambio como **mutualismo**, esto es, algo que beneficia a todas las partes que contribuyen. Un ejemplo de mutualismo microbiano es el de los líquenes. Los líquenes constan de un hongo y un compañero fototrópico, ya sea un alga (eucariota) o una cianobacteria (procariota). El componente fototrópico es el productor principal, mientras que el hongo proporciona sujeción y protección de los elementos. En biología, el mutualismo se denomina **simbiosis**, que es una relación continua de distintos organismos. Cuando el intercambio opera principalmente en beneficio de una de las partes, la relación se describe como **parasitismo**, en la que el **hospedador** proporciona el beneficio principal al parásito. Para el aislamiento y clasificación de un parásito (p. ej., una bacteria o virus patógeno) a menudo es necesario simular en el laboratorio el ambiente de crecimiento que proporcionan las células hospedadoras. Esta situación en ocasiones representa un reto importante para el investigador.

Los términos “mutualismo”, “simbiosis” y “parasitismo” se relacionan con la ciencia de la **ecología** y los principios de la biología ambiental se encuentran implícitos en la microbiología. Los microorganismos son productos de la **evolución**, que es la consecuencia biológica de la **selección natural** que opera en una gran variedad de microorganismos distintos desde el punto de vista genético. Vale la pena tener en mente la complejidad de la historia natural antes de generalizar sobre los microorganismos, que forman el subgrupo más heterogéneo de las criaturas vivientes.

Una división biológica importante separa a las eucariotas, microorganismos que contienen núcleo rodeado de una membrana, de las procariotas, en los que el DNA no se separa del

citoplasma. Como se describirá más adelante y en el capítulo 2, se pueden hacer más distinciones entre las células eucariotas y procariotas. Por ejemplo, las primeras se distinguen por su tamaño relativamente grande y la presencia de organelos especializados, rodeados por membranas como las mitocondrias.

Como se describe con detalle más adelante, las células eucariotas (o Eukarya, desde el punto de vista filogenético) comparten su estructura celular definida e historia filogenética. Algunos grupos de microorganismos eucarióticos son **algas**, **protozoarios**, **hongos** y **mohos**.

Las propiedades singulares de los virus los colocan en un sitio aparte de las criaturas vivientes. Las eucariotas y procariotas son microorganismos puesto que contienen todas las enzimas necesarias para su multiplicación y poseen el equipo biológico necesario para la producción de energía metabólica. Por lo tanto, éstos se distinguen de los **virus**, que dependen de las células hospedadoras para estas funciones necesarias.

VIRUS

Los virus carecen de muchos de los atributos de las células, incluida la capacidad de multiplicarse. Sólo cuando infectan una célula adquieren el atributo clave de un sistema viviente: la reproducción. Se sabe que los virus infectan cualquier célula, incluidas las células microbianas. Las interacciones entre hospedador y virus tienden a ser altamente específicas y el espectro biológico de los virus refleja la diversidad de células hospedadoras potenciales. La diversidad de virus se expresa en su gran variedad de estrategias de multiplicación y supervivencia.

Una partícula viral consta de una molécula de ácido nucleico, ya sea DNA o RNA, cubierta por una capa proteínica o cápside (en ocasiones también cubierta por una capa de lípidos, proteínas y carbohidratos). Las proteínas, a menudo glucoproteínas, en la cápside establecen la especificidad de la interacción del virus con su célula hospedadora. La cápside protege al ácido nucleico y facilita la fijación y penetración del virus en la célula hospedadora. Dentro de la célula, el ácido nucleico viral redirige la maquinaria enzimática del hospedador hacia funciones vinculadas con la multiplicación del virus. En algunos casos, la información genética del virus se incorpora en forma de DNA en el cromosoma del hospedador. En otros, la información genética del virus sirve como base para la producción celular y liberación de copias del virus. Este proceso exige la multiplicación del ácido nucleico viral y la producción de proteínas virales específicas. La **maduración** consiste en armar subunidades recién sintetizadas de ácido nucleico y proteínas hasta formar partículas virales maduras, que posteriormente son liberadas hacia el ambiente extracelular. Algunos virus más pequeños necesitan la ayuda de otro virus en la célula hospedadora para su multiplicación. El elemento delta, también conocido como virus de la hepatitis D, es demasiado pequeño como para codificar incluso una sola proteína de la cápside y necesita ayuda del virus de la hepatitis B para su transmisión. Se sabe que los virus infectan una gran variedad de hospedadores tanto vegetales como animales y además protistas, hongos y bacterias. Sin embargo, la mayor parte de los virus puede infectar tipos específicos de células de una sola especie de hospedador.

Algunas enfermedades transmisibles de las plantas son causadas por **viroides**, moléculas pequeñas de RNA monocatenario y circular con enlaces covalentes estrechos que existen en forma de estructuras similares a varillas con numerosos pares de bases. Su tamaño varía de 246 a 375 nucleótidos de longitud. La variedad extracelular del viroide es RNA desnudo; carece de cápside de cualquier tipo. La molécula de RNA no contiene genes que codifican proteínas y, por lo tanto, el viroide depende por completo de las funciones del hospedador para su multiplicación. El RNA del viroide se multiplica por medio de la RNA-polimerasa dependiente del DNA de la planta hospedadora; la prioridad de esta enzima quizá contribuye a la patogenia del viroide.

Se ha demostrado que los RNA de los viroides contienen secuencias de bases repetidas invertidas en sus extremos 3′ y 5′, característica de los transposones (cap. 7) y de los retrovirus. De esta manera, probablemente han evolucionado a partir de transposones o retrovirus por la eliminación de secuencias internas.

En el capítulo 29 se describen las propiedades generales de los virus animales patógenos para el ser humano. Los virus bacterianos se describen en el capítulo 7.

PRIONES

Los grandes descubrimientos en los últimos 30 años han permitido la clasificación tanto molecular como genética del microorganismo transmisible que causa la **visna de las ovejas**, enfermedad degenerativa del sistema nervioso central de las ovejas. En los estudios ha sido posible identificar a la proteína específica de esta enfermedad en preparaciones obtenidas de cerebro de ovino infectado con esta encefalopatía y que puede reproducir los síntomas en ovejas sanas (fig. 1-1). Los esfuerzos por identificar otros componentes, como ácidos nucleicos, no han tenido éxito. Con el fin de distinguir a este elemento de los virus y viroides,



FIGURA 1-1 Prión. Priones aislados a partir del cerebro de un hámster infectado por visna de las ovejas. Esta enfermedad neurodegenerativa es causada por un prión. (Reimpresa con autorización de Stanley B. Prusiner/Visuals Unlimited.)

se introdujo el término **prión** para subrayar su naturaleza proteinácea e infecciosa. La forma celular de la proteína priónica (PrP^c) es codificada por el DNA cromosómico del hospedador. La PrP^c es una sialoglucoproteína con un peso molecular de 33 000 a 35 000 y un alto contenido de una estructura helicoidal α secundaria que es sensible a las proteasas y soluble en detergente. La PrP^c se expresa en la superficie de las neuronas a través del anclaje de glucosilfosfatidilinositol en cerebros tanto infectados como no infectados. El único componente conocido del prión es una isoforma anormal de esta proteína (PrP^{res}) y está vinculada con su potencial de transmisión. Posee la misma secuencia de aminoácidos que PrP^c, pero difiere desde el punto de vista físico de la isoforma celular normal por su alto contenido de hoja o lámina β, su insolubilidad en detergentes, su tendencia a aglutinarse y su resistencia parcial a la proteólisis. Se cree que la PrP^{res} induce a la PrP^c para que se doble o se vuelva a doblar hasta adquirir la forma de prión.

Existen otras enfermedades importantes causadas por priones (cuadro 1-1). El kuru, la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD, *Creutzfeldt-Jakob disease*), la enfermedad de Gerstmann-Sträussler-Scheinker y el insomnio familiar mortal afectan a los seres humanos. La encefalopatía espongiforme ovina, que se cree que es resultado de la ingestión de alimentos y harina de huesos preparados a partir de residuos de animales del matadero, ha causado la muerte de más de 184 000 cabezas de ganado en Gran Bretaña desde que se descubrió en 1985. Una nueva variedad de CJD (vCJD) en seres humanos, se ha vinculado con la ingestión de carne de res infectada por priones en el Reino Unido y Francia. Una característica común de todas estas enfermedades es la conversión de una sialoglucoproteína codificada por el hospedador en una forma resistente a la proteasa como consecuencia de la infección.

Las enfermedades por priones en los seres humanos son singulares porque se manifiestan en forma de enfermedades esporádicas, genéticas e infecciosas. El estudio de la biología de los priones constituye un tema nuevo importante de investigación biomédica y aún se debe aprender mucho.

PROCARIOTAS

Las características distintivas de las procariotas son su tamaño relativamente pequeño, casi siempre del orden de 1 μm de diámetro, y la ausencia de una membrana nuclear. El DNA de casi todas las bacterias es un círculo con una longitud aproximada de 1 mm; este es el cromosoma procariótico. La mayor parte de las células procariotas posee un solo cromosoma. El DNA cromosómico se debe doblar más de 1 000 veces para acomodarse dentro de la membrana celular procariótica. Existe evidencia considerable que sugiere que quizá estos dobleces se realizan en

CUADRO 1-1 Principales enfermedades en seres humanos y animales causadas por priones

Tipo	Nombre	Causa
Enfermedades por priones en seres humanos		
Adquiridas	Variante de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob[a]	Vinculada con la ingestión o inoculación de material infectado por priones
	Kuru	
	Enfermedad yatrógena de Creutzfeldt-Jakob[b]	
Esporádicas	Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob	Se desconoce el origen de la infección
Familiares	Gerstmann-Sträussler-Scheinker	Vinculadas con mutaciones específicas dentro del gen que codifica al PrP
	Insomnio familiar mortal	
	Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob	
Enfermedades por priones en animales		
Ganado vacuno	Encefalopatía espongiforme bovina	Contacto con carne y alimento de harina de hueso contaminado con priones
Ovejas	Visna de las ovejas	Ingestión de material contaminado con visna de las ovejas
Venados, alces	Enfermedad por desgaste crónico	Ingestión de material contaminado con priones
Mink	Encefalopatía transmisible del mink	Se desconoce la fuente de la infección
Gatos	Encefalopatía espongiforme felina[a]	Contacto con carne y alimento de harina de hueso contaminado con priones

[a] Vinculado con el contacto con materiales contaminados por encefalopatía espongiforme bovina.

[b] Vinculado con materiales biológicos contaminados por priones como injerto de duramadre, trasplante de córnea, hormona de crecimiento humana derivada de cadáver o instrumentos quirúrgicos contaminados por priones.

Reimpreso con autorización de ASM News 3:570, Dec, 2008.

forma ordenada, acercando ciertas regiones del DNA. La región especializada de la célula que contiene al DNA se denomina **nucleoide** y se puede observar con un microscopio electrónico o un microscopio óptico después de someter a la célula a un tratamiento especial para poder observarlo. Por lo tanto, sería un error concluir que la diferenciación subcelular, claramente delimitada por membranas en las eucariotas, no existe en las procariotas. De hecho, estas últimas en algunos casos forman estructuras subcelulares unidas a membranas con funciones especializadas como los cromatóforos de las bacterias fotosintéticas (cap. 2).

Diversidad procariótica

El tamaño tan pequeño del cromosoma procariótico limita la cantidad de información genética que puede contener. La información más reciente basada en las secuencias del genoma indica que el número de genes dentro de una célula procariota varía de 468 en *Mycoplasma genitalium* a 7 825 en *Streptomyces coelicolor* y que muchos de estos genes se dedican a funciones básicas como generación de energía, síntesis macromolecular y multiplicación celular. Las procariotas poseen relativamente pocos genes que permiten la adaptación fisiológica del microorganismo a su ambiente. El espectro de ambientes procarióticos potenciales es inconcebiblemente amplio, por lo que el grupo procariótico comprende a una categoría heterogénea de especialistas, cada uno adaptado a un entorno circunscrito bastante estrecho.

La gama de ambientes procarióticos se ilustra al considerar las estrategias utilizadas para generar energía metabólica. La principal fuente de energía para la vida es la luz solar. Algunas procariotas como las bacterias púrpuras convierten la energía luminosa en energía metabólica sin producción de oxígeno. Otras, ejemplificadas por las bacterias verde-azules (**cianobacterias**) producen oxígeno que proporciona energía a través de la respiración en ausencia de luz. Los **microorganismos aerobios** dependen de la respiración con oxígeno para obtener energía. Algunos **microorganismos anaerobios** utilizan aceptores de electrones distintos del oxígeno en la respiración. Muchos anaerobios llevan a cabo **fermentaciones**, de donde obtienen la energía a partir de la reorientación metabólica de los sustratos químicos para el crecimiento. La gran variedad química de sustratos potenciales para el crecimiento tanto aerobio como anaerobio se refleja en la diversidad de procariotas que se han adaptado a su utilización.

Comunidades procarióticas

Una estrategia útil de supervivencia para los especialistas es entrar en **consorcios**, organizaciones en las que las características fisiológicas de los diferentes microorganismos contribuyen a la supervivencia del grupo como un todo. Si los microorganismos dentro de una comunidad interrelacionada desde el punto de vista físico se derivan directamente a partir de una célula, la comunidad es un **clon** que contiene hasta 10^8 células. La biología de esta comunidad difiere considerablemente de la de una sola célula. Por ejemplo, el gran número de células prácticamente asegura que en el clon existe cuando menos una célula que posee una variante de cualquier gen en el cromosoma. Por lo tanto, la variabilidad genética (la fuente del proceso evolutivo llamado selección natural) se encuentra asegurada en un clon. Entre mayor sea el número de células dentro de los clones, mayor es la probabilidad de ofrecer protección fisiológica cuando menos a algún miembro del grupo. Por ejemplo, los polisacáridos extracelulares confieren protección contra algunos elementos potencialmente mortales como los antibióticos o iones de metales pesados. La gran cantidad de polisacáridos producidos por numerosas células dentro de un clon permite que las que están en el interior sobrevivan al contacto con un elemento mortal a una concentración que aniquilaría a células individuales.

Muchas bacterias utilizan un mecanismo de comunicación intercelular llamado **percepción de quórum** para regular la transcripción de los genes que participan en diversos procesos fisiológicos, como bioluminiscencia, transferencia conjugada de plásmidos y producción de los factores que confieren virulencia. La percepción de quórum depende de la producción de una o más moléculas de señales que se pueden difundir llamadas **autoinductores** o **feromonas** y que permiten a la bacteria vigilar su propia densidad de población celular. Es un ejemplo del comportamiento multicelular en las procariotas.

Una característica distintiva de las procariotas es su capacidad de intercambio de pequeños paquetes de información genética. Esta información es llevada en los **plásmidos**, elementos genéticos pequeños y especializados que se pueden multiplicar cuando menos dentro de una línea celular procariótica. En algunos casos, los plásmidos se transfieren de una célula a otra y por lo tanto llevan consigo grupos de información genética especializada a través de una población. Algunos plásmidos exhiben un **espectro amplio de hospedadores** que les permite transmitir grupos de genes a distintos microorganismos. Algunos de los más importantes son los **plásmidos de resistencia farmacológica**, que provocan que varias bacterias sean resistentes al tratamiento con antimicrobianos.

La estrategia de supervivencia de una sola línea celular procariótica conduce a un espectro de interacciones con otros microorganismos. Éstas comprenden relaciones simbióticas ilustradas por intercambios nutritivos complejos entre los microorganismos dentro del intestino humano. Estos intercambios benefician tanto a los microorganismos como a sus hospedadores humanos. Algunas veces las interacciones parasitarias son nocivas para el hospedador. La simbiosis o el parasitismo avanzado provocan la pérdida de ciertas funciones que no permiten el crecimiento del simbionte o parásito independientemente de su hospedador.

Por ejemplo, los **micoplasmas** son parásitos procariotos que han perdido la capacidad para formar una pared celular. La adaptación de estos microorganismos a su ambiente parasitario ha tenido como resultado la incorporación de una cantidad considerable de colesterol en sus membranas celulares. El colesterol, que no se observa en otras procariotas, es asimilado a partir del ambiente metabólico del hospedador. La pérdida de la función también es ejemplificada por los parásitos intracelulares obligados, **clamidias** y **rickettsias**. Estas bacterias son muy pequeñas (0.2 a 0.5 μm de diámetro) y dependen de la célula hospedadora para muchos metabolitos esenciales y coenzimas. Esta pérdida de la función se refleja por la presencia de un genoma más pequeño con menos genes (cuadro 7-1).

Al parecer, los ejemplos de mayor distribución de simbiontes bacterianos son los cloroplastos y las mitocondrias, que son los organelos que liberan energía de las eucariotas. Numerosas pruebas indican que los antecesores de estos organelos eran **endosimbiontes**, procariotas que establecieron simbiosis dentro

de la membrana celular del hospedador eucariótico ancestral. La presencia de múltiples copias de los organelos quizá contribuyó al tamaño relativamente grande de las células eucarióticas y a su potencial de especialización, rasgo que finalmente se ha reflejado en la evolución de los microorganismos multinucleares diferenciados.

Clasificación de las procariotas

Para comprender cualquier grupo de microorganismos, es necesario hacer una **clasificación**. Un buen sistema de clasificación permite al científico elegir las características con las que se puede categorizar con rapidez y precisión cualquier microorganismo nuevo. La categorización permite pronosticar muchos rasgos adicionales que comparten otros miembros de la misma categoría. En el ámbito hospitalario, la clasificación satisfactoria de un microorganismo patógeno ofrece la vía más directa para eliminarlo. Asimismo, la clasificación permite conocer las relaciones existentes entre diversos microorganismos y esta información tiene un gran valor práctico. Por ejemplo, un microorganismo patógeno se podrá eliminar durante un tiempo relativamente largo si su hábitat es ocupado por una variedad no patógena.

En el capítulo 3 se describen los principios de la clasificación procariótica. Al principio es importante reconocer que cualquier característica procariótica puede servir como criterio potencial de clasificación. Sin embargo, no todos los criterios son tan efectivos para agrupar microorganismos. Por ejemplo, la posesión de DNA constituye un criterio inútil para distinguir a los microorganismos puesto que todas las células lo contienen. La presencia de un plásmido con un espectro amplio de hospedadores no es un criterio útil puesto que estos plásmidos existen en distintos hospedadores y no es necesario que existan todo el tiempo. Los criterios útiles pueden ser estructurales, fisiológicos, bioquímicos o genéticos. Las **esporas**, estructuras celulares especializadas que permiten la supervivencia en ambientes extremos, son criterios estructurales útiles para la clasificación puesto que sólo subgrupos bien clasificados de bacterias forman esporas. Algunos grupos de bacterias se pueden subdividir con base en su potencial para fermentar ciertos carbohidratos. Estos criterios son poco efectivos cuando se aplican a otros grupos bacterianos que carecen de potencial de fermentación. Existe una prueba bioquímica, la **tinción de Gram**, que constituye un criterio efectivo de clasificación puesto que la respuesta al colorante refleja diferencias fundamentales y complejas en la superficie celular bacteriana que dividen a la mayor parte de las bacterias en dos grupos principales.

Los criterios genéticos cada vez se utilizan más en la clasificación bacteriana y muchos de estos avances han sido posibles gracias a la tecnología de DNA recombinante. Ahora es posible diseñar sondas de DNA que permiten identificar rápidamente microorganismos que poseen regiones genéticas específicas con una ascendencia común. Al comparar las secuencias del DNA de algunos genes se pudieron conocer las **relaciones filogenéticas** entre las procariotas. Es posible rastrear las líneas celulares ancestrales y agrupar a los microorganismos con base en sus afinidades evolutivas. A partir de estas investigaciones surgieron conclusiones sorprendentes. Por ejemplo, la comparación de las secuencias del citocromo c sugiere que todos los eucariotos, incluidos los seres humanos, se originaron a partir de uno de tres grupos de bacterias fotosintéticas púrpuras. Esta conclusión explica parcialmente el origen evolutivo de las eucariotas, pero no toma en cuenta por completo la suposición por lo general aceptada de que la célula eucariótica se deriva de la fusión evolutiva de distintas líneas celulares procarióticas.

Bacterias y arqueobacterias: subdivisiones principales dentro de las procariotas

Un logro importante en la filogenia molecular ha sido demostrar que las procariotas pertenecen a uno de dos grupos principales. La mayor parte de las investigaciones se ha orientado hacia un grupo, las bacterias. El otro grupo, las arqueobacterias, ha recibido menos atención hasta hace poco, en parte a causa de que muchos de sus representantes son difíciles de estudiar en el laboratorio. Por ejemplo, algunas arqueobacterias mueren al contacto con el oxígeno y otras crecen a una temperatura que excede la del agua en ebullición. Antes de contar con indicios moleculares, los principales subgrupos de arqueobacterias parecían diferentes. Las metanógenas llevan a cabo una respiración anaerobia que genera metano; las halófilas necesitan una concentración muy elevada de sal para crecer; y las termoacidófilas necesitan una temperatura elevada y gran acidez. Ahora se sabe que estas procariotas comparten rasgos bioquímicos como la pared celular o los componentes de la membrana que los colocan en un grupo completamente aparte del de los demás microorganismos vivientes. Un rasgo intrigante que comparten las arqueobacterias y eucariotas es la presencia de **intrones** dentro de los genes. No se ha establecido la función de los intrones (segmentos de DNA que interrumpen al DNA informativo dentro de los genes). Lo que se sabe es que los intrones representan una característica fundamental que comparte el DNA de las arqueobacterias y eucariotas. Este rasgo común ha originado la hipótesis de que, al igual que las mitocondrias y cloroplastos parecen ser derivados evolutivos de las bacterias, el núcleo eucariótico se originó a partir de una arqueobacteria antecesora.

PROTISTAS

El "núcleo verdadero" de las eucariotas (del griego *karyon*, "núcleo") constituye sólo una de sus características distintivas. Los organelos adheridos a la membrana, los microtúbulos y los microfilamentos de las eucariotas forman una estructura intracelular compleja distinta a la encontrada en las procariotas. Los elementos para la motilidad de las células eucarióticas son flagelos o cilios (estructuras complejas formadas por múltiples filamentos que difieren de los flagelos de las procariotas). La expresión genética en los eucariotos se lleva a cabo a través de una serie de eventos que logran la integración fisiológica del núcleo con el retículo endoplásmico, estructura que carece de contraparte en las procariotas. Las eucariotas forman un grupo aparte por la organización de su DNA celular en forma de cromosomas separados por un aparato mitótico distintivo durante la división celular.

En general, la transferencia genética entre las eucariotas depende de la fusión de los **gametos haploides** para formar una célula **diploide** que contiene un conjunto completo de genes derivados de cada gameto. El ciclo vital de muchas eucariotas se lleva a cabo casi por completo en estado diploide, cualidad de la que carecen las procariotas. La fusión de los gametos para formar su progenie reproductiva constituye una función altamente específica y establece la base de la **especie** eucariótica. Este tér-

mino se puede aplicar sólo en forma metafórica a las procariotas, que intercambian fragmentos de DNA a través de la recombinación. Los grupos taxonómicos de las eucariotas a menudo se basan en una serie de **propiedades morfológicas** compartidas y es importante señalar que muchos de los factores taxonómicos están ligados a la reproducción. Casi todas las especies eucarióticas exitosas son aquellas en las que las células afines, miembros de la misma especie, se pueden recombinar para formar descendencia viable. Las estructuras que contribuyen de manera directa o indirecta al proceso de la reproducción tienden a ser muy avanzadas, con modificaciones mínimas entre las especies afines, y conservadas.

Las eucariotas microbianas (**protistas**) son miembros de cuatro grupos principales: algas, protozoarios, hongos y mohos. Es importante señalar que estos grupos no son necesariamente filogenéticos: algunos microorganismos afines se han clasificado por separado puesto que aún no se encuentran similitudes bioquímicas y genéticas de fondo.

Algas

El término "alga" se utiliza desde hace tiempo para referirse a los microorganismos que producen O_2 como fruto de la fotosíntesis. Un subgrupo importante de estos microorganismos, las bacterias verde-azules o cianobacterias, son procariotas y ya no se llaman algas. Esta clasificación se reserva exclusivamente para los microorganismos eucariotos fotosintéticos. Todas las algas contienen clorofila en la membrana fotosintética de su cloroplasto subcelular. Muchas especies de algas son unicelulares. Otras algas forman estructuras multicelulares muy grandes. Los sargazos de algas cafés miden en ocasiones varios cientos de metros de longitud. Otras algas producen toxinas que son venenosas para el ser humano y otros animales. Los dinoflagelados, algas unicelulares, generan las mareas rojas en el océano (fig. 1-2). La marea roja producida por el dinoflagelado de la especie *Gonyaulax* es importante, puesto que este microorganismo produce neurotoxinas como **saxitoxina** y **gonyautoxinas**, que se acumulan en los mariscos (p. ej., almejas, mejillones, callo de hacha y ostiones) que se alimentan con este microorganismo. Cuando los seres humanos consumen estos mariscos presentan los síntomas de la **intoxicación paralítica por mariscos** e incluso pueden morir.



FIGURA 1-2 Microfotografía electrónica de un dinoflagelado *Gymnodinium* (4000×). (Reimpresa con autorización de David M. Phillips/Visuals Unlimited.)

Protozoarios

Los protozoarios son organismos protistas unicelulares no fotosintéticos. Los protozoarios más primitivos son flagelados y se asemejan en muchos aspectos a algunos representantes de las algas. Probablemente los antecesores de estos protozoarios fueron algas que se tornaron **heterótrofas**, las necesidades alimentarias de estos microorganismos se satisfacen con compuestos orgánicos. La adaptación a un modo de vida heterótrofo en ocasiones se acompañó de pérdida de los cloroplastos y, de esta manera, las algas originaron a los protozoarios afines. Se han observado eventos similares en el laboratorio como resultado de una mutación o de una adaptación fisiológica.

Al parecer, a partir de los protozoarios flagelados surgieron las variedades ameboides y ciliadas; se sabe que algunas formas intermedias poseen flagelos durante una fase de su ciclo vital y seudópodos (característicos de la ameba) en otra fase. Un cuarto grupo de protozoarios, los esporozoarios, son parásitos estrictos que casi siempre son inmóviles; la mayor parte se reproduce de manera sexual y asexual en generaciones alternas por medio de esporas. En el capítulo 46 se describen los protozoarios parásitos del ser humano.

Hongos

Los hongos son protistas no fotosintéticos que crecen en forma de aglomeración de filamentos ramificados y entrelazados ("hifas") conocidos como **micelios**. A pesar de que las hifas poseen paredes cruzadas, éstas tienen perforaciones que permiten el paso libre del núcleo y citoplasma. Por lo tanto, el microorganismo completo es un cenocito (aglomeración multinucleada de citoplasma continuo) confinado dentro de una serie de tubos ramificados. Estos tubos, elaborados a base de polisacáridos como quitina, son homólogos con las paredes celulares. Los micelios se denominan **mohos**; unas cuantas variedades, las **levaduras**, no forman micelios pero se reconocen fácilmente como hongos por la naturaleza de su reproducción sexual y la presencia de formas de transición.

Probablemente los hongos representan una rama evolutiva de los protozoarios; no tienen relación con los actinomicetos, que son bacterias con micelios a las que se parecen superficialmente. Las subdivisiones principales (filo) de los hongos son: Chytridiomycota, Zygomycota (cigomicetos), Ascomycota (ascomicetos), Basidiomycota (basidiomicetos) y los "deuteromicetos" (u hongos imperfectos).

La evolución de los ascomicetos a partir de los ficomicetos se observa en un grupo de transición, cuyos miembros forman un cigoto que posteriormente se transforma en ascos. Se cree que los basidiomicetos provienen a su vez de los ascomicetos. La clasificación de los hongos y su importancia médica se describen en el capítulo 45.

Mohos de fango

Estos microorganismos se caracterizan por la presencia, durante una fase de su ciclo vital, de una masa multinucleada ameboide

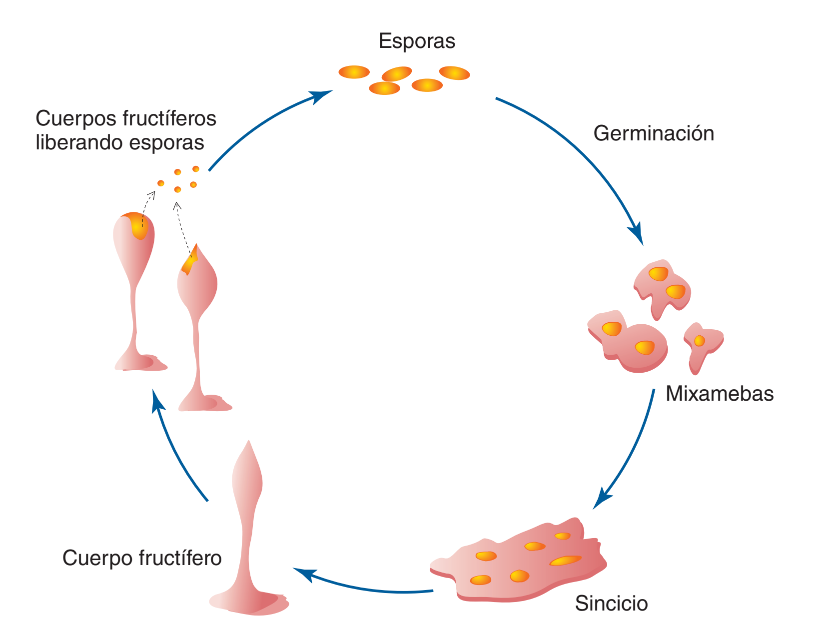




FIGURA 1-3 Mohos de fango. **A:** Ciclo vital de un moho de fango acelular. **B:** Cuerpo fructífero de un moho de fango celular. (Reimpresa con autorización de Carolina Biological Supply/Phototake.)

de citoplasma llamada **sincicio**. El sincicio de un moho de fango es análogo al micelio de un hongo verdadero. Ambos son cenocíticos. En este último, la circulación citoplásmica se confina a la red de tubos quitinosos, mientras que en el primero el citoplasma circula en cualquier dirección. Esta circulación provoca que el sincicio emigre en dirección de su fuente alimentaria, a menudo bacterias. En respuesta a una señal química, 3′,5′-AMP cíclico (cap. 7), el sincicio, que alcanza un tamaño macroscópico, se diferencia para formar un cuerpo con pedúnculo que produce células móviles individuales. Estas células, flageladas o ameboides, empiezan una nueva ronda en el ciclo vital del moho de fango (fig. 1-3). El ciclo a menudo empieza por la fusión sexual de células aisladas.

El ciclo vital de los mohos de fango ilustra un tema central de este capítulo: la interdependencia de las formas vivientes. El crecimiento de los hongos de fango depende de los nutrientes que proporcionan las bacterias o, en algunos casos, las células vegetales. La reproducción de los mohos de fango a través de sincicios depende del reconocimiento intracelular y la fusión de las células de la misma especie. Para comprender bien las características de un microorganismo es importante conocer a los otros microorganismos con los que ha evolucionado y apreciar el espectro de respuestas fisiológicas que contribuyen a su supervivencia.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿Cuál de los términos siguientes describe la interacción entre un hongo y un alga en un liquen?
   (A) Parasitismo
   (B) Simbiosis
   (C) Endosimbiosis
   (D) Endoparasitismo
   (E) Consorcio
2. ¿Cuál de los siguientes carece de ácido nucleico?
   (A) Bacterias
   (B) Virus
   (C) Viroides
   (D) Priones
   (E) Protozoarios
3. ¿Cuál de los siguientes no es protista?
   (A) Bacterias
   (B) Algas
   (C) Protozoarios
   (D) Hongos
   (E) Mohos de fango
4. ¿Cuál de los siguientes contiene simultáneamente DNA y RNA?
   (A) Bacterias
   (B) Virus
   (C) Viroides
   (D) Priones
   (E) Plásmidos
5. Un hombre de 65 años de edad manifiesta demencia progresiva a lo largo de varios meses acompañada de ataxia y somnolencia. El patrón del electroencefalograma exhibe paroxismos con voltajes altos y ondas lentas sugestivas de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Esta enfermedad es causada por cuál de los siguientes:
   (A) Bacteria
   (B) Virus
   (C) Viroide
   (D) Prión
   (E) Plásmido

Respuestas

1. B 3. A 5. D
2. D 4. A

BIBLIOGRAFÍA

Belay ED: Transmissible spongiform encephalopathies in humans. Annu Rev Microbiol 1999;53:283. [PMID: 10547693]

Diener TO: Viroids and the nature of viroid diseases. Arch Virol 1999;15(Suppl):203.

Lederberg J (editor): *Encyclopedia of Microbiology*, 4 vols. Academic Press, 1992.

Olsen GJ, Woese CR: Th e winds of (evolutionary) change: Breathing new life into microbiology. J Bacteriol 1994;176:1. [PMID: 8282683]

Pelczar MJ Jr, Chan ECS, Krieg NR: Microbiology: *Concepts and Applications*. McGraw-Hill, 1993.

Priola SA: How animal prions cause disease in humans. Microbe 2008;3:568.

Prusiner SB: Biology and genetics of prion diseases. Annu Rev Microbiol 1994;48:655.

Reisser W (editor): *Algae and Symbiosis: Plants, Animals, Fungi, Viruses, Interactions Explored*. Biopress, 1992.

Schloss PD, Handlesman J: Status of the microbial census. Microbiol Mol Biol Rev 2004;68:686.

Sleigh MA: *Protozoa and Other Protists*. Chapman & Hall, 1990.

Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ: Prokaryotes: The unseen majority. Proc Natl Acad Sci USA 1998;95:6578. [PMID: 7826022]

CAPÍTULO

2

Estructura celular

INTRODUCCIÓN

En este capítulo se revisa la estructura y función básicas de los componentes que constituyen a las células eucariotas y procariotas. El capítulo inicia con el análisis del microscopio. Desde el punto de vista histórico, el microscopio reveló por primera vez la presencia de bacterias y más tarde, los secretos de la estructura celular. Hoy en día es aún una herramienta poderosa en el estudio de la biología celular.

MÉTODOS ÓPTICOS

El microscopio de luz

El poder de resolución del microscopio de luz bajo condiciones ideales es de casi la mitad de la longitud de onda de la luz utilizada. El **poder de resolución** es la distancia que debe separar dos puntos de fuentes de luz para que puedan observarse como dos imágenes distintas. Con la longitud de onda de la luz amarilla con 0.4 μm, los diámetros separados más pequeños son de casi 0.2 μm, casi la tercera parte del ancho de una célula procariota típica. La utilidad del microscopio radica en que la magnificación hace visibles las partículas más pequeñas alcanzables en el poder de resolución. En microbiología a menudo se utilizan varios tipos de microscopios de luz:

A. Microscopio de campo brillante

El microscopio de campo brillante es el utilizado más a menudo en los cursos de microbiología y consiste en dos series de lentes (**objetivo** y **ocular**) que actúan en conjunto para la resolución de la imagen. Estos microscopios por lo general emplean una lente objetivo con 100 aumentos y una lente ocular con 10 aumentos, con lo que la magnificación de la muestra es de hasta 1 000 veces. Las partículas con diámetros de 0.2 μm se incrementan de tamaño a casi 0.2 mm, por lo que se hacen claramente visibles. La magnificación adicional no brinda mayor resolución de detalle y puede reducir el área de visibilidad (**campo**).

Con el microscopio, las muestras se tornan visibles por las diferencias en el **contraste** entre ellas y el entorno. Muchas bacterias son difíciles de observar bien por la falta de contraste con el medio circundante. Pueden utilizarse colorantes para teñir las células o sus organelos e incrementar el contraste, de forma que sean visibles con mayor facilidad en la microscopia de campo brillante.

B. Microscopio de contraste de fases

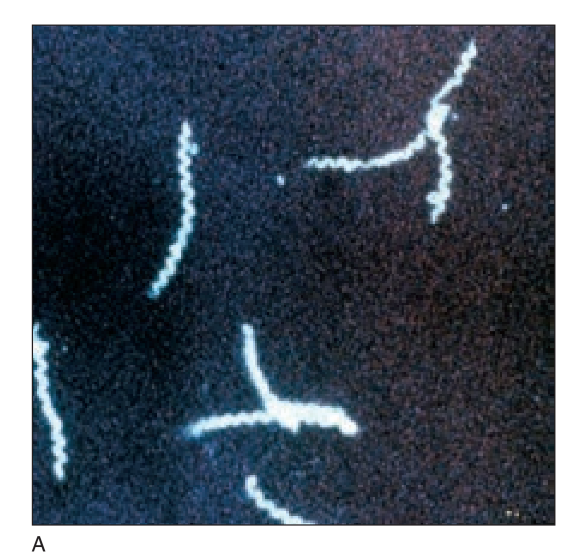
El microscopio de contraste de fases se desarrolló para mejorar las diferencias de contraste entre las células y el medio circundante, con lo que se hace posible observar células vivas sin tinción; con los microscopios de campo brillante deben utilizarse preparaciones de microorganismos muertos y teñidos. La microscopia de contraste de fases toma ventaja del hecho de que la luz pasa a través de objetos transparentes, como las células, y se fusiona en diferentes fases dependiendo de las propiedades de los materiales a través de los cuales pasa. Este efecto se amplifica por medio de un anillo especial en la lente objetivo del microscopio de contraste de fases, lo que da origen a la formación de una imagen oscura en un entorno luminoso.

C. Microscopio de campo oscuro

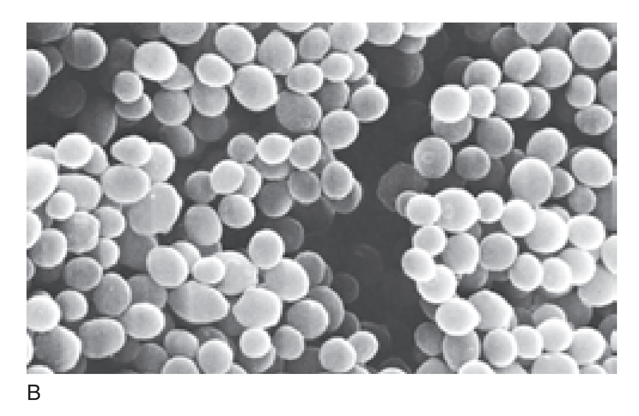
El microscopio de campo oscuro es el microscopio de luz en el cual el sistema de iluminación se ha modificado para alcanzar la muestra desde un solo lado. Esto se logra a través del uso de un condensador especial que bloquea la luz directa y la refleja a través de un espejo ubicado a un costado del condensador en un ángulo oblicuo. Esto crea un "campo oscuro" que crea un contraste contra el borde luminoso de la muestra y da origen a que los rayos oblicuos se reflejen desde el borde de la muestra hacia el objetivo del microscopio. La resolución de la microscopia de campo oscuro es bastante alta. Así, esta técnica ha sido de particular utilidad para la observación de microorganismos como *Treponema pallidum*, una espiroqueta con un diámetro inferior a 0.2 μm y que por tanto no puede observarse con microscopia de contraste de fases o de campo brillante (fig. 2-1A).

D. Microscopio de fluorescencia

El microscopio de fluorescencia se utiliza para visualizar muestras con efecto de **fluorescencia**, que tiene la capacidad de absorber luz de longitud de onda corta (ultravioleta) y emitir luz con mayor longitud de onda (luz visible). Algunos microorganismos presentan fluorescencia natural por la presencia de sustancias fluorescentes, por ejemplo la clorofila. Aquellos que no presentan fluorescencia natural pueden teñirse con un



A



B

FIGURA 2-1 **A:** Examen positivo en campo oscuro. Los treponemas se identifican por su forma característica en sacacorchos y por los movimientos hacia adelante y hacia atrás con rotación sobre su eje longitudinal. (Reproducida con autorización de Charles Stratton/Visuals Unlimited). **B:** Microscopia de barrido electrónico de bacterias de *Staphylococcus aureus* (32 000×). (Reproducida con autorización de David M. Phillips/Photo Researchers, Inc.)

grupo de colorantes fluorescentes denominados **fluorocromos**. La microscopia de fluorescencia se utiliza ampliamente para el diagnóstico microbiológico. Por ejemplo, el fluorocromo auramina O adquiere un color amarillo brillante cuando se expone a la luz ultravioleta y es captado en gran medida por *Mycobacterium tuberculosis*, la bacteria que causa la tuberculosis. Cuando el colorante se aplica a una muestra que se sospecha contiene *M. tuberculosis* y se expone a la luz ultravioleta, la bacteria puede detectarse por la aparición de microorganismos de color amarillo brillante contra un campo oscuro.

El uso principal de la microscopia de fluorescencia es la técnica diagnóstica denominada **técnica de anticuerpos fluorescentes** (FA, *fluorescent-antibody*) o **inmunofluorescencia**. En esta técnica, anticuerpos específicos (p. ej., anticuerpos contra *Legionella pneumophila*) se marcan por medios químicos con fluorocromos como el **isotiocianato de fluoresceína** (FITC, *fluorescein isothiocyanate*). Tales anticuerpos fluorescentes se añaden a la preparación que contiene la muestra. Si la muestra contiene *L. pneumophila*, los anticuerpos fluorescentes se unen a los antígenos en la superficie de la bacteria, dando origen a fluorescencia cuando haya exposición a luz ultravioleta.

E. Microscopio diferencial de contraste de interferencia (DIC)

Los microscopios **diferenciales de contraste de interferencia** utilizan un polarizador para producir luz polarizada, la cual se hace pasar a través de un prisma que genera dos haces distintos; estos haces pasan a través de la muestra y entran al objetivo donde se combinan en un solo haz. Por las ligeras diferencias en el índice de refracción de las sustancias a través de las cuales pasa cada haz, los haces combinados no están por completo alineados, sino que crean un efecto de interferencia, el cual intensifica diferencias útiles en la estructura celular. Estructuras como esporas, vacuolas y gránulos adquieren un aspecto tridimensional. La microscopia DIC es en particular útil para observar células no teñidas, por su capacidad para producir imágenes que revelan estructuras celulares internas que son menos aparentes con las técnicas de campo brillante.

Microscopio electrónico

El gran poder de resolución de la microscopia electrónica ha permitido a los científicos observar estructuras detalladas de células procariotas y eucariotas. La resolución superior de la microscopia electrónica se debe al hecho de que los electrones tienen una longitud de onda mucho más corta que los fotones de la luz blanca.

Hay dos tipos de microscopios electrónicos para uso general: el **microscopio electrónico de transmisión** (TEM, *transmission electron microscope*), que tiene muchas características en común con el microscopio de luz y el **microscopio electrónico de barrido** (SEM, *scanning electron microscope*). El TEM fue el primero en ser desarrollado y utiliza un haz de electrones proyectados desde una fuente de electrones y se dirige a partir de un condensador electromagnético hacia una muestra delgada. Conforme los electrones golpean la muestra, son dispersados en forma diferencial por los diferentes números atómicos y masa atómica en la muestra; algunos electrones pasan a través de la muestra y son recopilados y dirigidos por una lente objetivo electromagnética, que presenta una imagen de la muestra a un sistema de proyección de lentes para su ampliación adicional. Se visualiza la imagen al permitir que se afecte la pantalla, la cual presenta fluorescencia cuando chocan los electrones. La imagen puede registrarse en película fotográfica. El TEM permite observar partículas con separación de 0.001 μm. Los virus con diámetros de 0.01 a 0.2 μm pueden observarse con facilidad.

El SEM por lo común tiene menor poder de resolución que el TEM; sin embargo, es de particular utilidad para proporcionar imágenes tridimensionales de la superficie de objetos microscópicos. Los electrones se dirigen por medio de lentes a un punto muy fino. La interacción de los electrones con la muestra da origen a la liberación de diferentes formas de radiación (p. ej., electrones secundarios) de la superficie del material, la cual se capta por medio de un detector apropiado, se amplifica y más tarde se presenta como imágenes en una pantalla de televisión (fig. 2-1B).

Una técnica importante en la microscopia electrónica es el uso de “sombreado”. Esto consiste en el depósito de una capa delgada de metal pesado (como platino) sobre la muestra al colocarlo en el trayecto del haz de iones metálicos en el vacío. El haz se dirige en un ángulo agudo con respecto a la muestra, de forma que adquiere una “sombra” en la forma de un área no cubierta

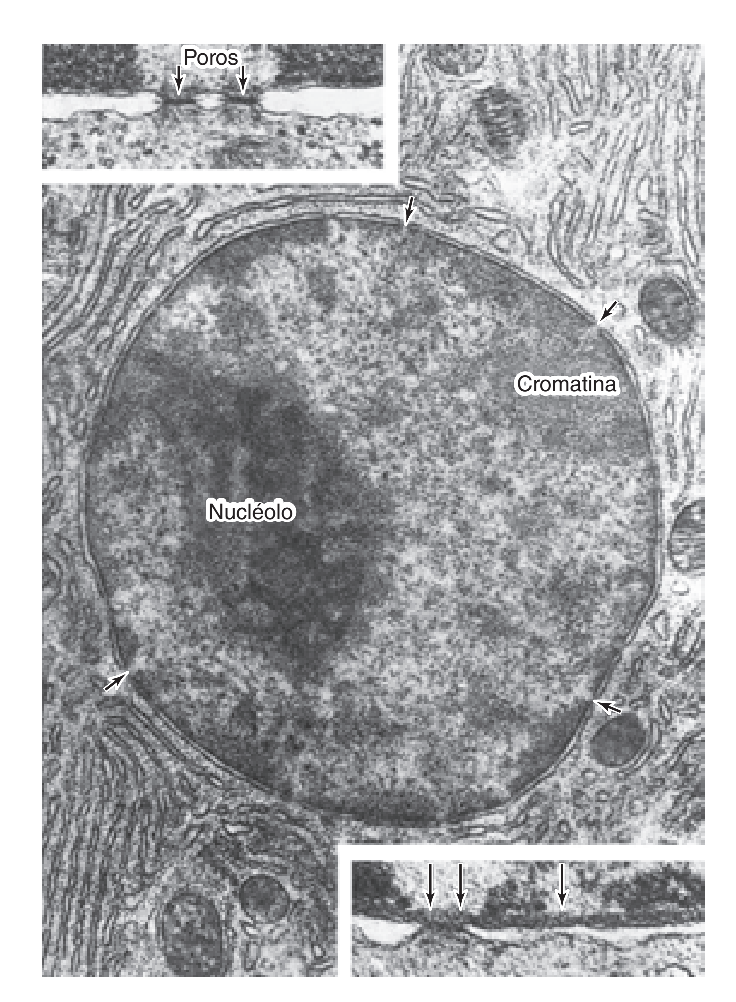


FIGURA 2-2 Micrografía electrónica de un corte delgado de un núcleo típico de una célula eucariota que muestra un nucléolo prominente y agregados grandes de heterocromatina contra la membrana nuclear, que es atravesada por poros (*flechas*). **Recuadro superior izquierdo:** Dos poros nucleares con los diafragmas correspondientes. **Recuadro inferior derecho:** La lámina fibrosa se encuentra presente en la cara interna de la envoltura nuclear. Se observan varias mitocondrias en el citoplasma. (Reproducida con autorización de Fawcett DW: *Bloom and Fawcett, A Textbook of Histology*, 12th ed. Copyright © 1994. Con autorización de Chapman & Hall, New York, NY.)

en el otro lado. Cuando un haz de electrones pasa a través de la preparación cubierta en el microscopio electrónico y se crea una imagen positiva a partir de una imagen "negativa" se logra un efecto tridimensional (fig. 2-22).

Otra técnica importante en la microscopia electrónica incluye el uso de cortes ultradelgados de material incrustado, un método de congelamiento-secado de muestras que evita la distorsión causada por los procedimientos convencionales desecados, y con el uso de tinciones negativas con un material denso para los electrones, como el ácido fosfotungsténico o sales de uranilo (fig. 42-1). Sin estas sales de metales pesados, no se lograría suficiente contraste para detectar los detalles de una muestra.

Microscopio láser confocal

El **microscopio láser confocal** (CSLM, *confocal scanning laser microscope*) asocia una fuente luminosa láser con un microscopio de luz. En la microscopia láser confocal un haz láser se dirige a un espejo que a su vez dirige el haz a través del dispositivo de imagen. A continuación el haz láser se dirige a través de un orificio que se ajusta con precisión al plano del foco del haz para dar una capa vertical en la muestra. Al iluminar con precisión sólo un plano de la muestra, la intensidad de la iluminación disminuye con rapidez por arriba y por abajo del plano del foco y aleja la luz de otros planos diferentes al focal. Así, con muestras relativamente gruesas, pueden observarse varias capas al ajustar el plano del foco del haz láser.

Las células a menudo se tiñen con colorantes fluorescentes para hacerlas más visibles. Otro método consiste en generar imágenes con color falso al ajustar el microscopio en forma tal que se obtengan diferentes capas con diferentes colores. Los microscopios láser confocales están equipados con programas informáticos para crear imágenes digitales para su procesamiento subsiguiente. Así, las imágenes obtenidas de las diferentes capas pueden almacenarse y superponerse por medios digitales para reconstruir una imagen tridimensional de la totalidad de la muestra.

Microscopio de sonda de barrido

Los **microscopios de sonda de barrido** son una nueva clase de microscopios que miden características de la superficie al desplazar una sonda sobre la superficie del objeto. La **microscopia de efecto túnel** y la **microscopia de fuerza atómica** son ejemplos de esta nueva clase de microscopios, que permiten a los científicos observar átomos o moléculas en la superficie de la muestra estudiada. Por ejemplo, pueden estudiarse las interacciones entre las proteínas de la bacteria *Escherichia coli* con el empleo de un microscopio de fuerza atómica.

ESTRUCTURA DE CÉLULAS EUCARIOTAS

Núcleo

El **núcleo** contiene el genoma de la célula. Está limitado por una membrana formada por un par de unidades de membrana separadas por un espacio de grosor variable. La membrana interna por lo común es un saco simple, pero la membrana más externa se presenta en varios sitios como una continuación del retículo endoplásmico. La **membrana nuclear** muestra permeabilidad selectiva por la presencia de poros, que consisten en varias proteínas complejas cuya función es importar sustancias y extraer sustancias del núcleo. Los cromosomas de las células eucariotas contienen macromoléculas de DNA lineal expuestas en una doble hélice. Sólo son visibles con la microscopia de luz cuando la célula se encuentra en división y el DNA se encuentra en una forma muy condensada; en otros momentos los cromosomas no se encuentran condensados y tienen el aspecto que se muestra en la figura 2-2. Las macromoléculas de DNA de las células eucariotas se asocian con proteínas básicas denominadas **histonas** que se unen al DNA por medio de interacciones iónicas.

Una estructura a menudo visible en el núcleo es el **nucléolo**, un área rica en RNA que es el sitio de síntesis del RNA ribosómico (fig. 2-2). Las proteínas ribosómicas sintetizadas en el citoplasma se transportan hacia el nucléolo y se combinan con RNA ribosómico para formar subunidades grandes y pequeñas de

ribosoma eucariota. Más tarde éstas son llevadas al citoplasma donde se asocian para formar ribosomas intactos que participan en la síntesis de proteínas.

Estructuras citoplásmicas

El citoplasma de las células eucariotas se caracteriza por la presencia de un retículo endoplásmico, vacuolas, plástidos que se reproducen por sí mismos y un citoesqueleto complejo, compuesto por microtúbulos, microfilamentos y filamentos intermedios.

El **retículo endoplásmico** (ER, *endoplasmic reticulum*) es una red de conductos limitados por membranas que tienen continuidad con la membrana del núcleo. Se identifican dos tipos de retículo endoplásmico: **rugoso**, al cual se unen ribosomas 80S y **liso**, sin dichos ribosomas (fig. 2-2). El retículo endoplásmico rugoso es el principal productor de glucoproteínas y también produce nuevo material de membrana que se transporta a través de la célula; el retículo endoplásmico liso participa en la síntesis de lípidos y en algunos aspectos del metabolismo de los carbohidratos. El **aparato de Golgi** consiste en un conjunto de membranas que funcionan en combinación con el retículo endoplásmico para modificar y organizar productos químicos del retículo endoplásmico que más tarde serán secretados y aquellos que participan en la producción de otras estructuras de la membrana celular.

Los plástidos incluyen **mitocondrias** y **cloroplastos**. Varias pruebas sugieren que las mitocondrias y cloroplastos son descendientes de microorganismos procariotas antiguos y que se originaron del englobamiento de células procariotas por células de mayor tamaño (**endosimbiosis**). Las mitocondrias tienen el tamaño de una célula procariota y su membrana, que carece de esteroles, es mucho menos rígida que la membrana citoplásmica de las células eucariotas, las cuales contienen esteroles. Las mitocondrias contienen dos grupos de membranas. La membrana más externa es permeable y cuenta con numerosos conductos diminutos que permiten el paso de iones y moléculas pequeñas (p. ej., ATP). La invaginación de la membrana externa forma un sistema de membranas plegadas internas denominadas **crestas**. Las crestas son los sitios donde se encuentran las enzimas que participan en la respiración y producción de ATP. También contienen proteínas de transporte específico que regulan el paso de metabolitos hacia el interior y el exterior de la **matriz** mitocondrial. Dicha matriz contiene varias enzimas, en particular aquellas que participan en el ciclo del ácido cítrico. Los cloroplastos son organelos celulares fotosintéticos capaces de convertir la energía de la luz solar a energía química por medio de la fotosíntesis. La clorofila y todos los demás componentes necesarios para la fotosíntesis se ubican en una serie de discos aplanados de la membrana denominados **tilacoides**. El tamaño, forma y número de cloroplastos por célula varía notablemente; a diferencia de las mitocondrias, los cloroplastos por lo general son mucho más grandes que las células procariotas. Las mitocondrias y cloroplastos contienen su propio DNA, el cual se encuentra en forma circular cerrada por medio de enlaces covalentes y codifica algunas proteínas (no todas) y participa en la transferencia de RNA. Las mitocondrias y cloroplastos también contienen ribosomas 70S, al igual que las procariotas.

Algunos microorganismos eucariotas (p. ej., *Trichomonas vaginalis*) carecen de mitocondrias y en su lugar contienen organelos respiratorios rodeados por una membrana, denominados **hidrogenosomas**. Estos últimos también parecen haberse originado por endosimbiosis y en algunos se ha identificado que contienen DNA y ribosomas. Los hidrogenosomas, pese a que son similares en tamaño con las mitocondrias, carecen de crestas y de las enzimas del ciclo del ácido tricarboxílico. El hidrogenosoma capta al piruvato, H_2, CO_2 y acetato y produce ATP.

Los **lisosomas** son sacos rodeados por membrana que contienen varias enzimas digestivas que las células utilizan para desdoblar macromoléculas como proteínas, grasas y polisacáridos. Los lisosomas permiten que estas enzimas no se encuentren en contacto con el citoplasma, donde pueden destruir macromoléculas celulares de importancia si no son contenidas en forma apropiada. Después de la hidrólisis de macromoléculas en los lisosomas, los monómeros resultantes pasan del lisosoma hacia el citoplasma donde actúan como nutrientes.

El **peroxisoma** es una estructura rodeada por membrana cuya función consiste en producir H_2O_2 por la reducción de O_2 a partir de varios hidrógenos donadores. El H_2O_2 producido en el peroxisoma más tarde se degrada a H_2O y O_2 por acción de la enzima **catalasa**.

El **citoesqueleto** es una estructura tridimensional que ocupa el citoplasma. Los tres tipos principales de fibras que comprenden el citoesqueleto son **microfilamentos**, **filamentos intermedios** y **microtúbulos**. Los microfilamentos tienen casi 3 a 6 nm de diámetro y son los polímeros compuestos por subunidades de la proteína **actina**. Estas fibras forman andamios a través de los cuales se define y mantiene la forma de la célula. Los microfilamentos pueden desplazarse por los movimientos celulares, lo que incluye deslizamiento, contracción y citocinesis.

Los microtúbulos son tubos cilíndricos, de 20 a 25 nm de diámetro y están compuestos por subunidades de la proteína **tubulina**. Los microtúbulos colaboran con los microfilamentos para mantener la estructura celular, formar las fibras fusiformes que separan los cromosomas durante la mitosis y también participar de manera importante en la motilidad celular. Los filamentos intermedios tienen casi 10 nm de diámetro y proporcionan fuerza tensil a la célula.

Capas superficiales

El citoplasma está rodeado por una membrana plasmática compuesta por proteínas y fosfolípidos, similar a la membrana de las células procariotas, ilustrada más adelante (fig. 2-10). La mayor parte de las células animales no tienen otras capas superficiales; no obstante, las células vegetales tienen una pared celular externa compuesta por celulosa. Muchos microorganismos eucariotas también tienen una **pared celular** externa, que puede ser compuesta por polisacáridos como celulosa o quitina o pueden ser inorgánicos, por ejemplo, la pared de sílice de las diatomeas.

Organelos que participan en la motilidad

Muchos microorganismos eucariotas tienen organelos denominados **flagelos** (p. ej., *Trichomonas vaginalis*) o **cilios** (p. ej.,

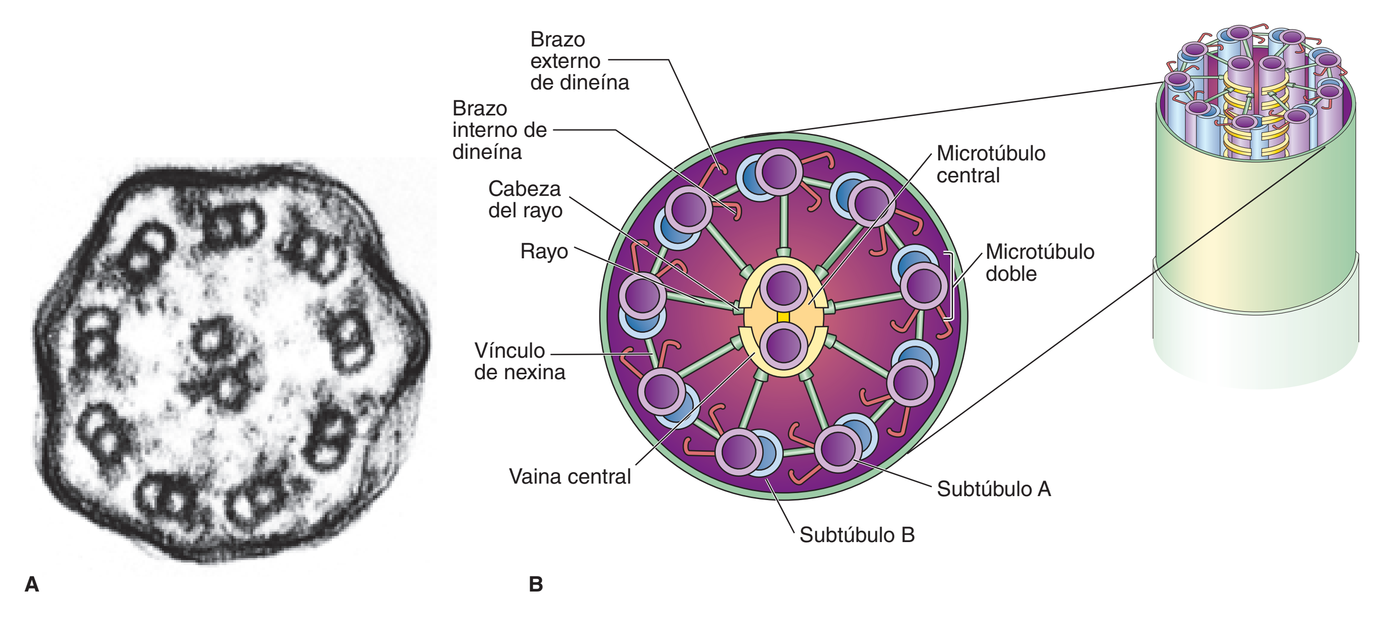


FIGURA 2-3 Estructura de cilios y flagelos. **A:** Micrografía electrónica de un corte transversal de un cilio. Obsérvense los dos microtúbulos centrales rodeados por nueve dobletes de microtúbulos (160 000×). (Reproducida de KG Murti/Visuals Unlimited) **B:** Diagrama de la estructura de cilios y flagelos. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ [eds]: *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology*, 7th ed. New York: McGraw-Hill; 2008.)

Balantidium coli) que permiten el movimiento similar a una onda que desplaza las células sobre el agua. Los flagelos eucariotas surgen de las regiones polares de la célula, donde los cilios, que son más cortos que los flagelos, rodean a las células. Los flagelos y los cilios de las células eucariotas tienen la misma estructura básica y composición bioquímica. Ambos consisten en grupos de microtúbulos, cilindros proteínicos huecos compuestos por una proteína llamada **tubulina** y que está rodeada por una membrana. La disposición de los microtúbulos se conoce como "sistema 9 + 2" porque está formado de nueve pares periféricos de microtúbulos rodeados por dos microtúbulos centrales (fig. 2-3).

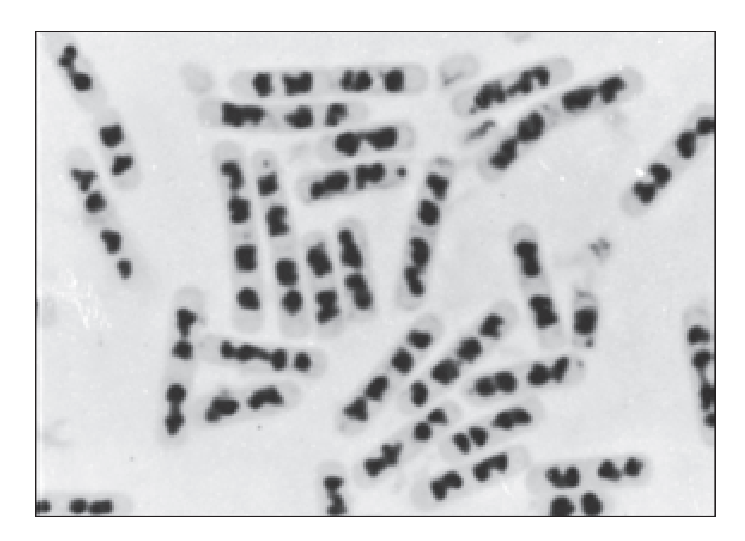


FIGURA 2-4 Nucleoides de *Bacillus cereus* (2 500×). (Reproducida con autorización de Robinow C: Bacteriol Rev 1956;20:207.)

ESTRUCTURA DE LAS CÉLULAS PROCARIOTAS

La célula procariota es más simple que la eucariota al nivel de la energía, con una excepción: la envoltura celular es más compleja.

Nucleoide

Las células procariotas no tienen un núcleo verdadero; almacenan su DNA en una estructura conocida como **nucleoide**. El nucleoide puede observarse en la microscopia de luz en material teñido (fig. 2-4). Es positivo para el colorante de Feulgen, lo que indica la presencia de DNA. El DNA de carga negativa es neutralizado, al menos en parte, por poliaminas pequeñas y por iones de magnesio, pero las proteínas similares a histonas existen en bacterias y tal vez desempeñan una función similar a la de las histonas en la cromatina de las células eucariotas.

Las micrografías electrónicas de células procariotas típicas, como en la figura 2-5, revelan la presencia de membrana nuclear y de un aparato mitótico. La excepción a esta regla son los plantomicetos, un grupo de bacterias acuáticas que tienen un nucleoide rodeado por una cubierta nuclear formada por dos membranas. La diferenciación entre las células procariotas y eucariotas es que las primeras no cuentan con un aparato similar al huso mitótico. La región nuclear (fig. 2-5) está llena con fibrillas de DNA. El nucleoide de la mayor parte de las células bacterianas consiste en una molécula circular única y continua, que varía en tamaño de 0.58 a casi 10 millones de pares de bases. Sin embargo, unas cuantas bacterias han demostrado poseer dos, tres o incluso cuatro cromosomas diferentes. Por ejemplo, *Vibrio cholerae* y *Brucella melitensis* tienen dos cromosomas distintos. Hay dos excepciones a esta regla de material genético circular porque algunas células procariotas (*Borre-*

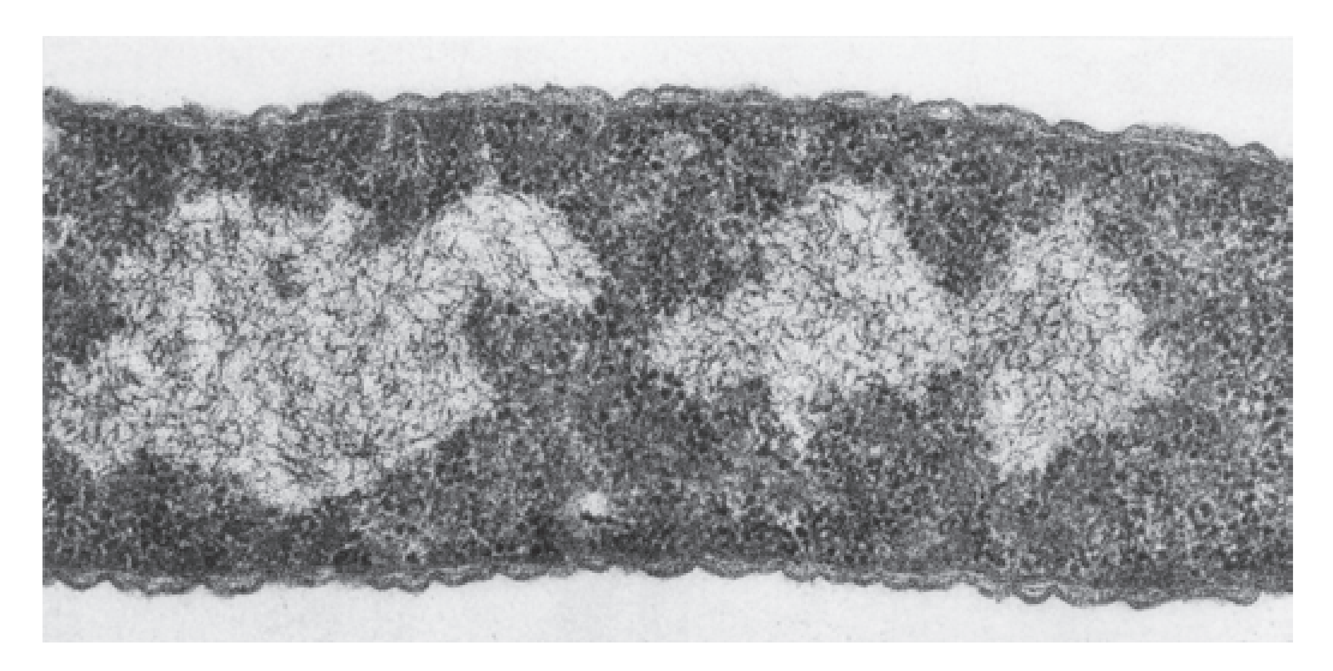


FIGURA 2-5 Corte delgado de una célula de *Escherichia coli* fijada con tetróxido de osmio y fijado más tarde con acetato de uranilo acuoso, que muestra dos regiones nucleares ocupadas con fibrillas de DNA. (Reproducida con autorización de Robinow C, Kellenberger E: Microbiol Rev 1994;58:211.)

lia burgdorferi y *Streptomyces coelicolor*) han mostrado poseer cromosomas lineales.

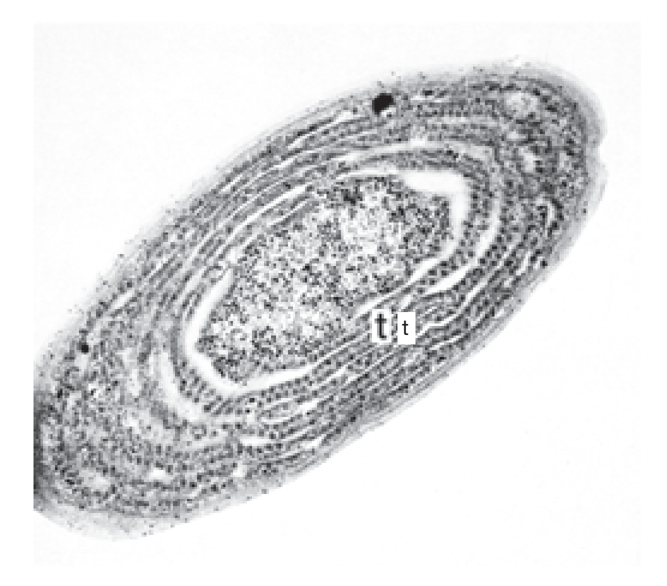
En las bacterias, el número de nucleoides y por tanto el número de cromosomas, depende de las condiciones de proliferación (fig. 2-4). Las bacterias con rápido crecimiento tienen nucleoides más grandes por célula que las de crecimiento lento; sin embargo, cuando se presentan múltiples copias, todas son similares (es decir, las células procariotas son **haploides**).

Estructuras citoplásmicas

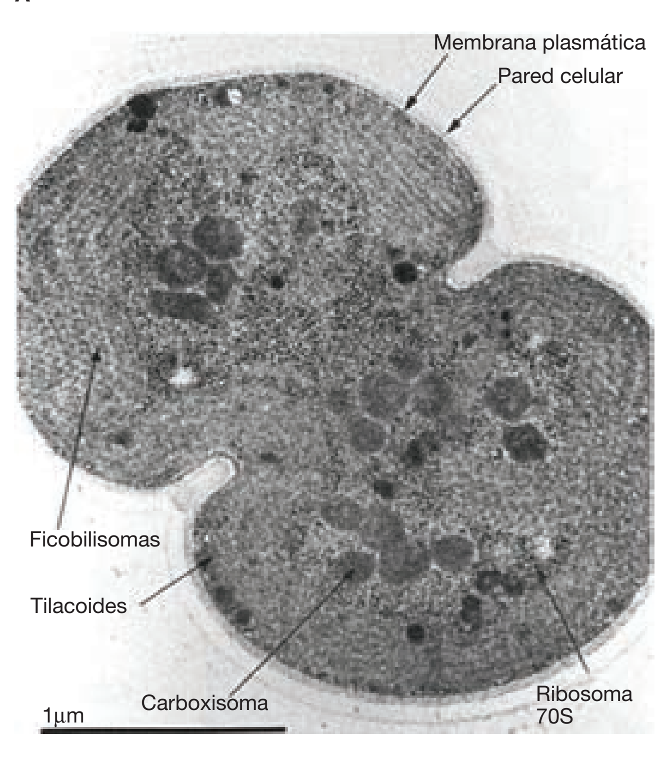
Las células procariotas carecen de plástidos autónomos, como las mitocondrias y cloroplastos; las enzimas de transporte de electrones se localizan en la membrana citoplásmica. Los pigmentos fotosintéticos (carotenoides, bacterioclorofila) de bacterias fotosintéticas se encuentran contenidos en sistemas de membranas intracitoplásmicas de varias morfologías. Las vesículas de membrana (**cromatóforos**) son tipos de membrana observadas a menudo. Algunas bacterias fotosintéticas tienen estructuras especializadas rodeadas por membrana denominadas **clorosomas**. En algunas cianobacterias (antes conocidas como algas azul-verdosas) las membranas fotosintéticas a menudo forman estructuras de múltiples capas conocidas como tilacoides (fig. 2-6). Los principales pigmentos accesorios utilizados para recolectar luz son las ficobilinas que se encuentran en la superficie externa de las membranas de los tilacoides.

Las bacterias a menudo almacenan materiales de reserva en la forma de gránulos insolubles, que tienen el aspecto de cuerpos refringentes en el citoplasma cuando se observan en un microscopio de contraste de fases. También se denominan cuerpos de inclusión y casi siempre participan en el almacenamiento de energía o como reservorio de bloques estructurales. La mayor parte de las inclusiones celulares están limitadas por una membrana delgada formada por lípidos, que sirve para separar los cuerpos de inclusión del citoplasma mismo. Uno de los cuerpos de inclusión más comunes consiste en **ácido poli-β hidroxibutírico** (PHB, *poly-β-hydroxybutyric acid*), un compuesto similar a un lípido que tiene cadenas de ácido β hidroxibutírico conectadas a través de enlaces éster. Se produce PHB cuando la fuente de nitrógeno, sulfuro y fósforo se encuentra limitada y hay exceso de carbón en el medio (fig. 2-7A). Otro producto de almacenamiento formado por las células procariotas cuando hay carbón en cantidades excesivas es el **glucógeno**, un polímero de la glucosa. El glucógeno y PHB se utilizan como fuentes de carbono cuando se reinicia la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos. Diversos procariotas son capaces de oxidar compuestos de sulfuro reducidos como ácido sulfhídrico y tiosulfato, produciendo gránulos intracelulares de **azufre** elemental (fig. 2-7C). Conforme las fuentes de azufre reducido se ven limitadas, se oxidan los gránulos de azufre, por lo común a sulfato y los gránulos desaparecen con lentitud. Muchas bacterias acumulan grandes reservas de fosfato inorgánico en la forma de gránulos de **polifosfato** (fig. 2-7B). Tales gránulos podrán degradarse y utilizarse como fuentes de fosfato para la producción de ácidos nucleicos y síntesis de fosfolípidos para mantener el crecimiento; y en ocasiones se denominan **gránulos de volutina** o **gránulos metacromáticos**, porque se tiñen de rojo con un colorante azul. Estas son características de las corinebacterias (cap. 13).

Ciertos grupos de bacterias autótrofas que fijan dióxido de carbono producen bloques de construcción bioquímica que contienen cuerpos poliédricos rodeados por una cubierta proteínica (**carboxisomas**) y contienen una enzima fundamental para la fijación de CO_2, la **carboxilasa de ribulosa bifosfato** (fig. 2-6B). Los **magnetosomas** son partículas cristalinas intracelulares del mineral de hierro magnetita (Fe_3O_4) que permiten que ciertas bacterias acuáticas muestren magnetotaxis (migración u orientación de la célula con respecto al campo magnético de la



A



B

FIGURA 2-6 **A:** Corte delgado de *Synechococcus lividus* que muestra un extenso sistema tilacoide. Los ficobilisomas que recubren estos tilacoides son claramente visibles como gránulos en la ubicación t (85 000×). (Reproducida con autorización de Elizabeth Gentt/Visuals Unlimited). **B:** Corte delgado de *Synechocystis* durante la división. Muchas estructuras son visibles. (Reproducida con autorización de Carlsberg Research Communications 42:77-98, 1977, Carlsberg Laboratories.)

Tierra). Los magnetosomas están rodeados por membranas que contienen fosfolípidos, proteínas y glucoproteínas. Las **vesículas de gas** se observan, casi de manera exclusiva en microorganismos de hábitat acuáticos, donde proporcionan flotabilidad. Las membranas de las vesículas de gas tienen proteínas con un grosor de 2 nm, son impermeables al agua y a los solutos pero permeables a los gases; así, las vesículas de gas existen como estructuras llenas de gas rodeadas por elementos del citoplasma (fig. 2-8).

Las bacterias contienen proteínas similares a la actina y proteínas del citoesqueleto diferentes a la actina de las células eucariotas, como proteínas adicionales que participan en la formación del citoesqueleto (fig. 2-9). Los homólogos de la actina (p. ej., MreB, Mbl) realizan varias funciones, y colaboran a establecer la forma de la célula, segregar cromosomas y localizar proteínas en la célula. Los homólogos diferentes a la actina (p. ej., FtsZ) y proteínas singulares del citoesqueleto bacteriano (p. ej., SecY, MinD) participan en determinar la forma celular en la regulación de la división celular y segregación de cromosomas.

Envoltura celular

Las células procariotas están rodeadas por una envoltura compleja en capas que difiere en composición entre los principales grupos. Tales estructuras protegen al microorganismo de entornos ambientales hostiles, como osmolaridad extrema, químicos nocivos e incluso antibióticos.

Membrana celular

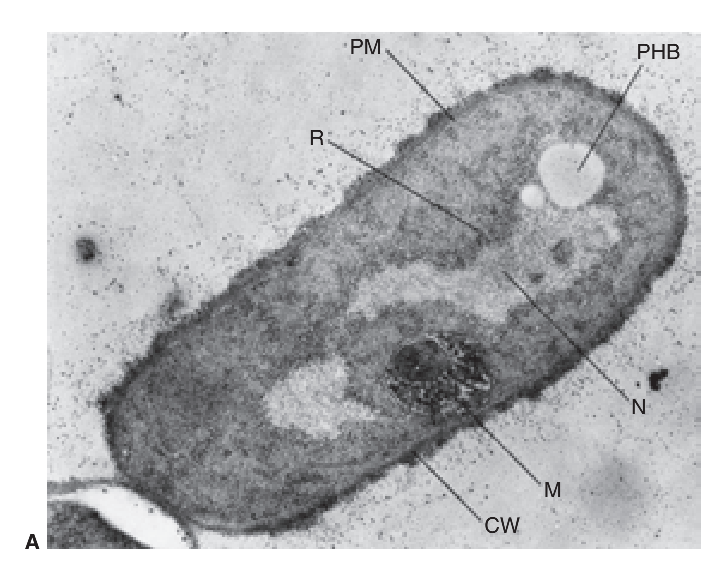
A. Estructura

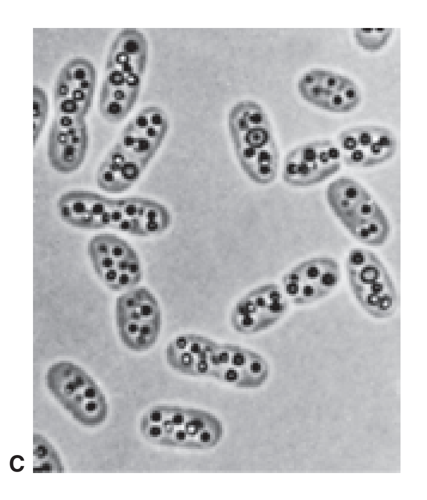
La membrana celular bacteriana, también denominada membrana citoplásmica, es visible en la micrografía electrónica de cortes delgados (fig. 2-8). Es una "unidad de membrana" típica compuesta por fosfolípidos y hasta 200 diferentes tipos de proteínas. Las proteínas constituyen casi 70% de la masa de la membrana, una proporción considerablemente más elevada en comparación con las membranas de las células de mamíferos. En la figura 2-10 se ilustra un modelo de organización de la membrana. La membrana de las células procariotas se diferencia de aquella de las células eucariotas por la ausencia de esteroles y la única excepción son los micoplasmas que incorporan esteroles, como el colesterol, en sus membranas cuando se cultiva en medios que contienen esteroles.

Las membranas celulares de las arqueobacterias difieren de las de las bacterias. Las membranas celulares de algunas arqueobacterias contienen un lípido singular, los **isoprenoides** en lugar de ácidos grasos, unidos al glicerol por un enlace éter en lugar de un enlace éster. Algunos de estos lípidos no contienen grupos fosfato y por tanto no son fosfolípidos. En otras especies las membranas celulares están constituidas por una monocapa de lípidos formada por lípidos grandes (casi el doble de la longitud de los fosfolípidos) con éteres de glicerol en ambos extremos (tetraéteres de diglicerol). Las moléculas se orientan a sí mismas por la presencia de grupos de glicerol polares en la superficie y cadenas de compuestos hidrocarbonos no polares en su interior. Estos lípidos poco comunes contribuyen a la capacidad de múltiples arqueobacterias de proliferar en condiciones ambientales, por ejemplo en presencia de grandes concentraciones de sal, pH bajo o temperaturas muy elevadas.

B. Función

Las principales funciones de la membrana citoplásmica son: 1) permeabilidad selectiva y transporte de solutos; 2) transporte de electrones y fosforilación oxidativa en especies aerobias; 3) ex-





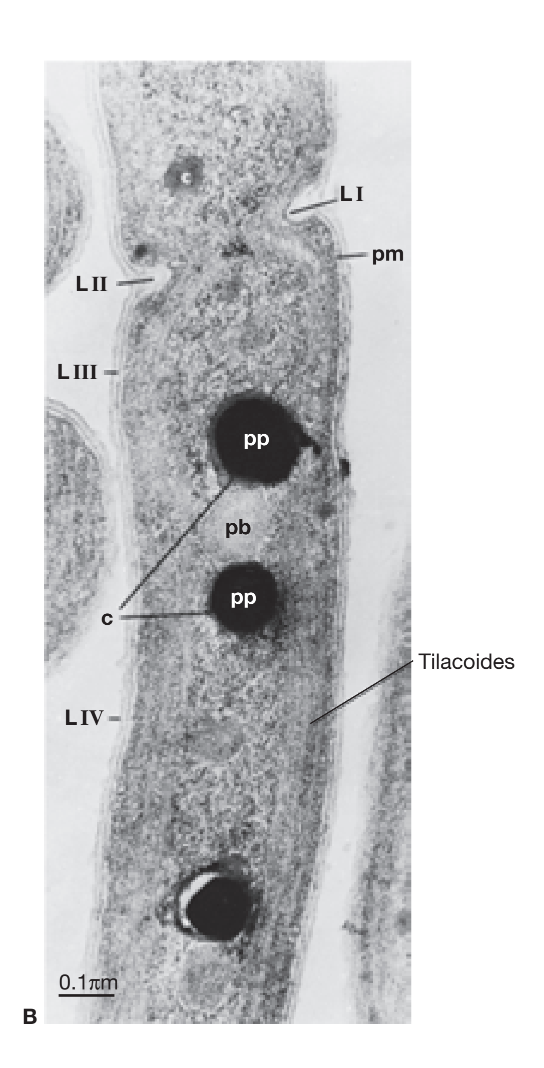


FIGURA 2-7 Cuerpos de inclusión en bacterias. **A:** Micrografía electrónica de *Bacillus megaterium* (30 500×) que muestra un cuerpo de inclusión de ácido poli-β-hidroxibutírico, PHB; pared celular, CW; nucleoide, N; membrana plasmática, PM; "mesosoma", M; y ribosomas, R. **B:** ultraestructura de la cianobacteria *Anacystis nidulans*. La bacteria se encuentra en división y se ha formado en parte un tabique, LI y LII. Pueden observarse varias características estructurales, lo que incluye las capas de la pared celular, LIII y LIV de gránulos de polifosfato, pp; cuerpo poliédrico, pb; material de cianofisina, c; membrana plasmática, pm. **C:** *Cromatium vinosum*, una bacteria reductora de sulfato con gránulos intracelulares de azufre en microscopia de campo brillante (2 000×). **A:** (Reproducida con autorización de Ralph A. Slepecky/Visuals Unlimited.) **B:** (Reproducida con autorización de National Research Council of Canada.) **C:** (Reproducida con autorización de *The Shorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed, John Holt, editor, 1977. Copyright Bergey's Manual Trust. Publicado por Williams & Wilkins.)

creción de exoenzimas hidrolíticas; 4) transporte de enzimas y moléculas que participan en la biosíntesis de DNA, polímeros de la pared celular y lípidos de la membrana, y 5) portar receptores y otras proteínas quimiotácticas y otros sistemas sensoriales de transducción.

Al menos 50% de la membrana citoplásmica debe encontrarse en estado semilíquido a fin de que ocurra la proliferación celular. Con temperaturas bajas, esto se logra al incrementar en gran medida la síntesis e incorporación de ácidos grasos no saturados en los fosfolípidos de la membrana celular.

1. Permeabilidad de transporte. La membrana citoplásmica forma una barrera hidrófoba impermeable a la mayor parte de las moléculas hidrofílicas. Sin embargo, existen varios mecanismos (**sistemas de transporte**) que permiten que la célula transporte nutrientes hacia el interior de la misma y productos de desecho hacia el exterior. Estos sistemas de transporte trabajan contra gradiente de concentración con el fin de incrementar la concentración de nutrientes en el interior de la célula, una función que requiere alguna forma de energía. Hay tres mecanismos de transporte generales que participan en el transporte de membrana: **transporte pasivo**, **transporte activo** y **translocación de grupo**.

a. Transporte pasivo. Este mecanismo depende de la difusión, no utiliza la energía y funciona sólo cuando el soluto se encuentra en concentraciones más elevadas fuera de la célula. La **difusión simple** explica la entrada de muy pocos nutrientes, lo que incluye el oxígeno disuelto, dióxido de carbono y el agua misma; no proporciona velocidad ni selectividad. La **difusión facilitada** no utiliza energía, de forma que el soluto nunca alcanza una concentración interna mayor que la que existe fuera de la célula. Sin embargo, esta difusión es selectiva. Los **con-**

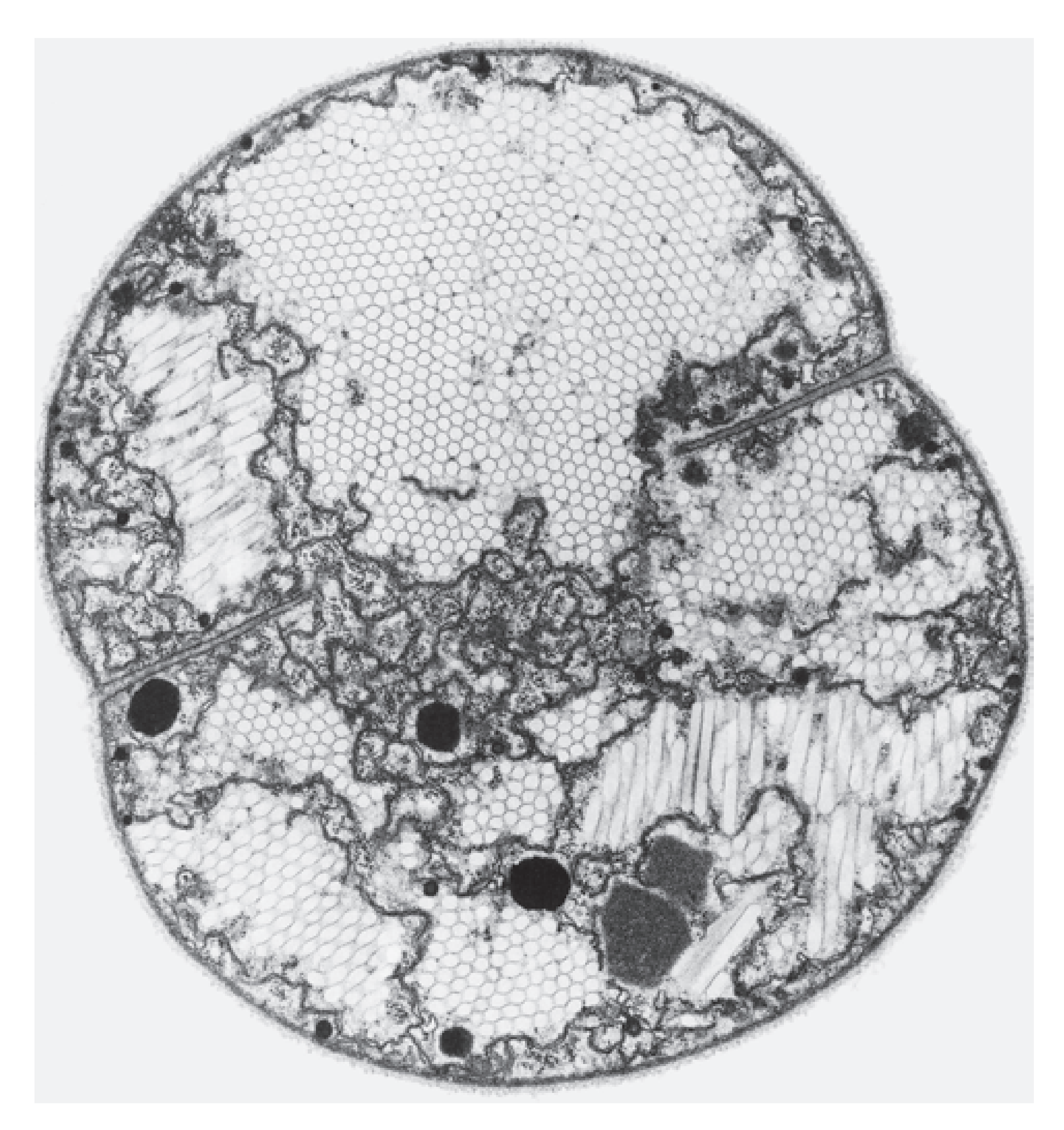


FIGURA 2-8 Corte transversal de una célula en división de una cianobacteria del género *Microcystis* que muestra agrupamiento hexagonal de vesículas cilíndricas de gas (31 500×). (Micrografía de HS Pankratz. Reproducida con autorización de Walsby AE: Gas vesicles. Microbiol Rev 1994;58:94.)

ductos de proteínas forman conductos selectivos que facilitan el paso de moléculas específicas. La difusión facilitada es común en microorganismos eucariotas (p. ej., levaduras) pero es poco común en células procariotas. El glicerol es uno de los pocos compuestos que penetran en las células procariotas por difusión facilitada.

b. Transporte activo. Muchos nutrientes se concentran más de 1 000 veces como consecuencia del transporte activo. Hay dos tipos de mecanismos de transporte activo, lo que depende de la fuente de energía utilizada: **transporte acoplado con iones** y **transporte con casete unido a ATP (ABC)**.

1) *Transporte acoplado con iones.* Estos sistemas desplazan una molécula a través de la membrana celular siguiendo un gradiente iónico previamente establecido, como una **fuerza de movimiento por sodio** o **de movimiento por protones**. Hay tres tipos básicos: **transporte simple** (*uniport*), **transporte paralelo** (*symport*) y **transporte antiparalelo** (*antiport*) (fig. 2-11). El transporte acoplado con iones es en particular común en microorganismos aerobios, que tienen mayor facilidad para generar una fuerza de desplazamiento de iones que los microorganismos anaerobios. Los uniportadores catalizan el transporte de un sustrato sin importar el ion acoplado. Los simportadores catalizan el transporte simultáneo de dos sustratos en la misma dirección por un solo transportador; por ejemplo, un gradiente de H^+ puede permitir el transporte paralelo de iones de carga opuesta (p. ej., glicina) o de moléculas de carga neutra (p. ej., galactosa). Los antiportadores catalizan el transporte simultáneo de dos compuestos de carga similar en direcciones opuestas por un transportador común (p. ej., H^+:Na^+). Casi 40% de los sustratos transportados por *E. coli* utilizan este mecanismo.

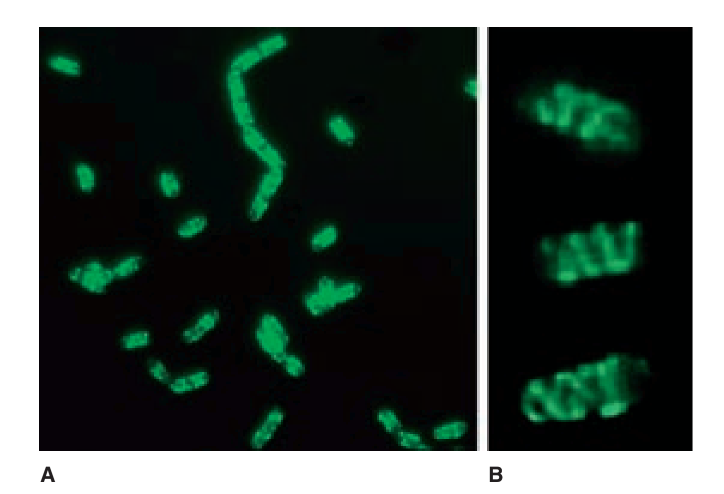


FIGURA 2-9 Citoesqueleto de una célula procariota. Se observa la proteína citoesquelética similar a MreB (Mbl) de *Bacillus subtilis*. La proteína Mbl se fusionó con una proteína fluorescente verde y las células vivas se analizaron en un microscopio de fluorescencia. **A:** Las flechas señalan los cables helicoidales del citoesqueleto que se extienden en la longitud de las células. **B:** Se muestran tres células de la ilustración A con mayor aumento. (Cortesía de Rut Carballido-Lopez y Jeff Errington.)

2) *Transporte ABC.* Este mecanismo emplea ATP directamente para el transporte de solutos hacia el interior de la célula. En bacterias gramnegativas el transporte de varios nutrientes se facilita por **proteínas de unión** específicas que se ubican en el espacio periplasmático; en células grampositivas las proteínas de unión se encuentran fijas a la superficie externa de la membrana celular. Estas proteínas funcionan al transferir el sustrato de unión a un complejo proteínico unido a la membrana. Se desencadena la hidrólisis de ATP y se utiliza la energía para abrir los poros de la membrana y permitir el movimiento unidireccional de los sustratos hacia el interior de la célula. Casi 40% de los sustratos transportados por *E. coli* utilizan este mecanismo.

c. Translocación de grupo. Además del transporte verdadero, en el cual un soluto se desplaza a través de la membrana sin cambio en su estructura, las bacterias utilizan un proceso denominado translocación del grupo (**metabolismo vectorial**) para llevar a cabo la captación neta de ciertos carbohidratos (p. ej., glucosa y manosa) el sustrato sufre fosforilación durante el proceso de transporte. En un sentido estricto, la translocación de grupo no es un transporte activo porque no participa un gradiente de concentración. Dicho proceso permite que las bacterias utilicen sus fuentes energéticas de manera eficiente al acoplar el transporte con el metabolismo. En este proceso, una proteína transportadora de membrana sufre fosforilación en el citoplasma a expensas del fosfoenolpiruvato; la proteína transportadora fosforilada se une al azúcar libre en la cara exterior de la membrana, es transportada hacia el citoplasma y liberada en forma de carbohidrato unido a un fosfato. Tales sistemas de transporte de carbohidratos se denominan sistemas de **fosfotransferasas**. Los sistemas de fosfotransferasas también participan en el movimiento hacia las fuentes de carbono (**quimiotaxis**) y en la regulación de otras vías metabólicas (**represión catabólica**).

d. Procesos especiales de transporte. El hierro (Fe) es un nutriente esencial para la proliferación de la mayor parte de las bacterias. En condiciones anaerobias este elemento por lo general se encuentra en estado de oxidación +2 y en estado soluble. Sin embargo, en condiciones anaerobias dicho metal por lo común se encuentra en estado de oxidación +3 y es insoluble. Los compartimientos internos de los animales prácticamente no contienen hierro libre, pues se encuentra secuestrado en complejos como las proteínas **transferrina** y **lactoferrina**. Algunas bacterias re-

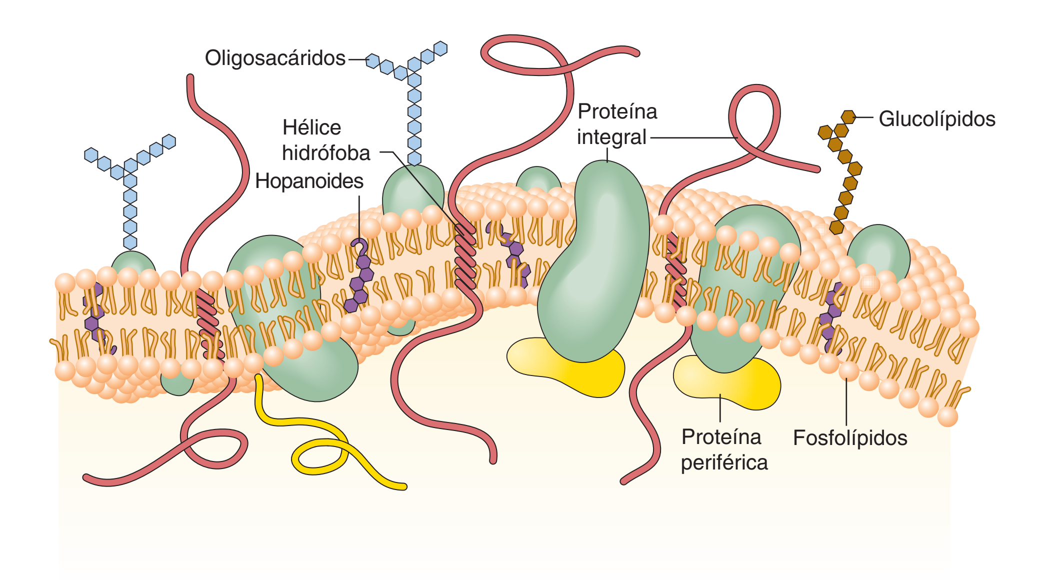


FIGURA 2-10 Estructura de la membrana plasmática bacteriana. Este diagrama del modelo de mosaico líquido de la estructura de la membrana bacteriana muestra proteínas integrales (verdes y rojas) flotando en una bicapa lipídica. Las proteínas periféricas (en color amarillo) tienen una asociación laxa con la superficie de la membrana interna. Las esferas pequeñas representan extremos hidrofílicos de fosfolípidos de la membrana y colas onduladas, que corresponden a las cadenas hidrófobas de ácidos grasos. Pueden encontrarse otros lípidos de membrana como los hopanoides (en color morado). Para mayor claridad, los fosfolípidos se muestran en un tamaño proporcionalmente mayor del que se encuentra en la membrana real. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ (eds): *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology*, 7th ed. New York, McGraw-Hill; 2008.)

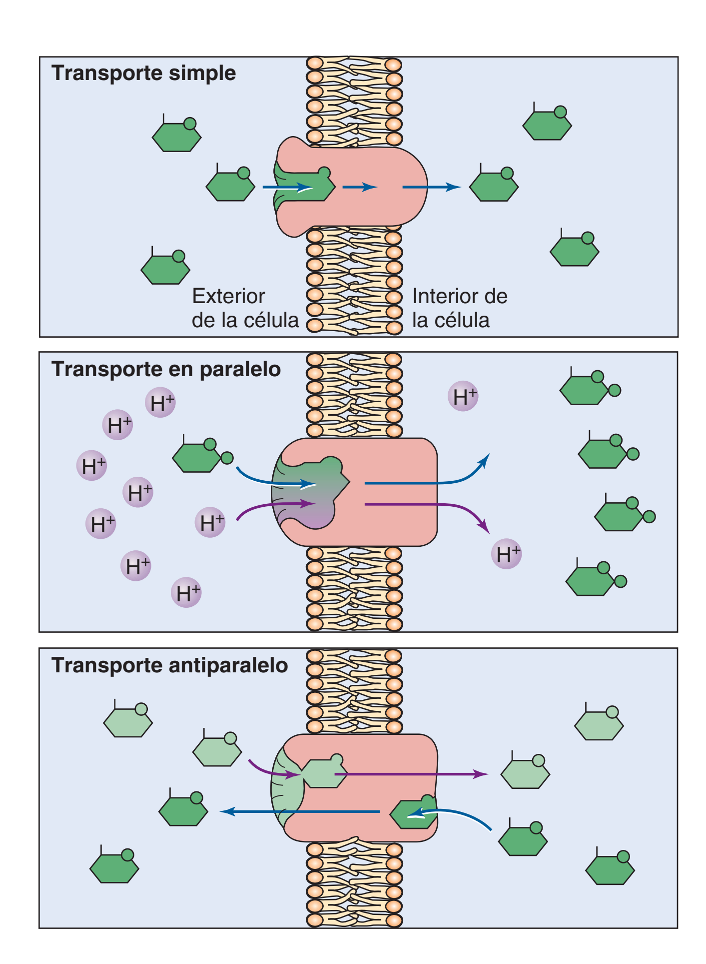


FIGURA 2-11 Tres tipos de transportadores: **A:** Transportadores simples, **B:** Transportadores en paralelo y **C:** Transporte antiparalelo. Los transportadores simples catalizan el transporte de una sola sustancia en forma independiente de otras; los transportadores en paralelo catalizan el cotransporte pero sustancias diferentes (por lo común un soluto y un ion con carga positiva, H^+) en la misma dirección y los transportadores antiparalelos catalizan el transporte de intercambio de dos solutos similares en direcciones opuestas. Una proteína de transporte simple puede catalizar sólo uno de estos procesos, dos de estos procesos o incluso los tres procesos, dependiendo de las condiciones. Los transportadores simples, en paralelo y antiparalelo parecen tener similitudes estructurales y evolución relacionada y por tanto funcionan por mecanismos similares. (Reproducida con autorización de Saier MH Jr: Peter Mitchell and his chemiosmotic theories. ASM News 1997;63:13.)

suelven este problema al secretar **sideróforos**, compuestos que causan la quelación de hierro y favorecen su transporte a complejos solubles. Uno de los principales grupos de sideróforos consiste en derivados del ácido hidroxámico ($-CONH_2OH$), los cuales producen la quelación intensa de Fe^{3+}. El complejo hierro-hidroxamato es transportado activamente hacia el interior de la célula por la acción cooperativa de un grupo de proteínas que abarcan la membrana externa, el periplasma y la membrana interna. El hierro se libera y el hidroxamato puede salir de la célula y utilizarse de nuevo para el transporte de hierro.

Algunas bacterias patógenas utilizan mecanismos fundamentalmente diferentes que incluyen receptores específicos que se unen a la transferrina y lactoferrina del hospedador (al igual que a otras proteínas del hospedador que contienen hierro). El hierro se retira y transporta hacia el interior de la célula por un proceso dependiente de energía.

2. Transporte de electrones y fosforilación oxidativa. Los citocromos y otras enzimas y componentes de la cadena respiratoria incluyen ciertas deshidrogenasas que se ubican en la membrana celular. La membrana celular bacteriana es un análogo funcional a la membrana mitocondrial, una relación que muchos biólogos han considerado como la base para la teoría de que las mitocondrias evolucionaron a partir de bacterias simbióticas. En el capítulo 6 se revisa el mecanismo por el cual la generación de ATP se acopla con el transporte de electrones.

3. Excreción de exoenzimas hidrolíticas y patogenia de las proteínas. Todos los organismos que dependen de polímeros orgánicos macromoleculares como fuente energética (p. ej., proteínas, polisacáridos, lípidos) excretan enzimas hidrolíticas que desdoblan los polímeros hasta subunidades lo suficientemente pequeñas para penetrar la membrana celular. Los animales superiores secretan tales enzimas en la luz del tubo digestivo; las bacterias (tanto grampositivas como gramnegativas) las secretan directamente al medio externo o en el espacio periplasmático entre la capa de peptidoglucano y la membrana externa de la pared celular en el caso de las bacterias gramnegativas (véase la sección Pared celular, adelante).

En las bacterias grampositivas, las proteínas se secretan directamente, en tanto que las proteínas secretadas por las bacterias gramnegativas deben atravesar también la membrana externa. Se han descrito seis vías de secreción de proteínas en las bacterias: sistemas de secreción tipos I, II, III, IV, V y VI. En la figura 2-12 se muestra un esquema de los sistemas tipos I a V. Los sistemas de secreción tipos I y IV se han descrito para bacterias grampositivas y gramnegativas, en tanto que los sistemas de tipos II, III, V y VI se han encontrado sólo en bacterias gramnegativas. Las proteínas secretadas por las vías de tipos I y III atraviesan la membrana interna (IM, *inner membrane*) y la membrana externa (OM, *outer membrane*) en un paso, en tanto que las proteínas secretadas por los tipos II y V cruzan la IM y OM en paso separados. Las proteínas secretadas por las vías de tipo II y V se sintetizan en ribosomas citoplásmicos como preproteínas que contienen una **secuencia principal** adicional o una **secuencia de señales** de 15 a 40 aminoácidos (más a menudo casi 30 aminoácidos) en el extremo amino terminal y requieren un sistema secundario para el transporte a través de la IM. En la *E. coli*, la vía secundaria comprende varias proteínas IM (SecD hasta SecF, SecY), una ATPasa asociada con la membrana celular (SecA) que proporciona energía para su exportación, una proteína **chaperona** (SecB) que se une a las preproteínas y una peptidasa de señal periplasmática. Después de la translocación, la secuencia principal sufre desdoblamiento por la peptidasa de señal unida a la membrana y se libera la proteína madura hacia el espacio periplasmático. Por el contrario, las proteínas secretadas por los sistemas de tipos I y III no tienen una secuencia principal y se exportan intactas.

En las bacterias gramnegativas y grampositivas, otro sistema de translocación de la membrana plasmática conocida como **vía *tat***, puede desplazar proteínas a través de la membrana plasmática. En las bacterias gramnegativas dichas proteínas son suministradas al sistema tipo II (fig. 2-12). La vía *tat* es diferente al sistema *sec* porque transporta proteínas ya plegadas.

Aunque las proteínas secretadas por los sistemas tipos II y V son similares en cuanto al mecanismo por el cual cruzan la membrana interna, existen diferencias en la forma en que atra-

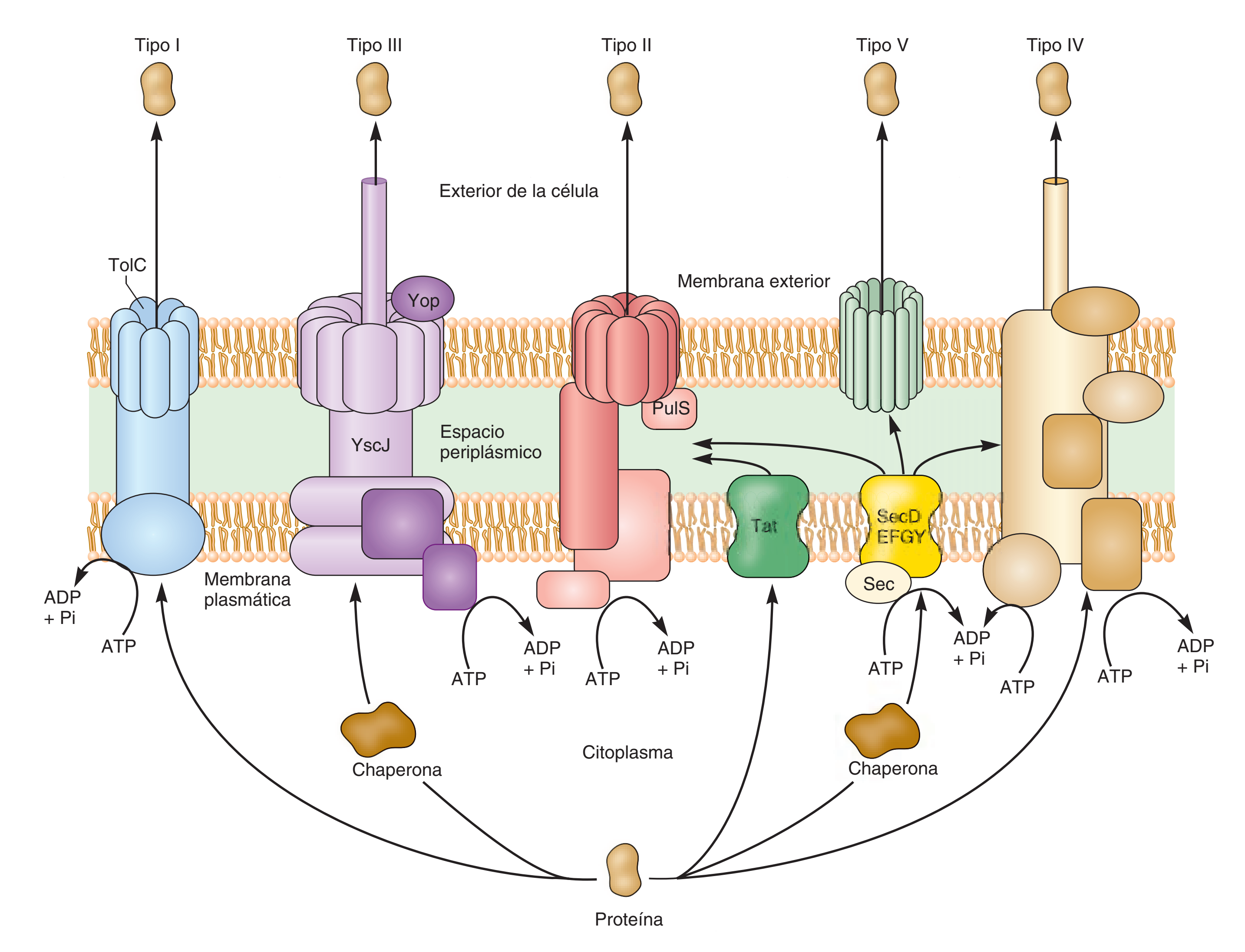


FIGURA 2-12 Sistemas de secreción de proteínas de bacterias gramnegativas. Se muestran cinco sistemas de secreción de las bacterias gramnegativas. Las vías dependientes de Sec y Tat suministran proteínas del citoplasma al espacio periplásmico. Los sistemas de tipos II, V y en ocasiones el IV completan el proceso de secreción por una vía dependiente de Sec. El sistema Tat parece suministrar proteínas sólo a la vía de tipo II. Los sistemas de tipos I y III evitan las vías dependientes de Sec y Tat, desplazando proteínas directamente del citoplasma a través de la membrana externa y hacia el espacio extracelular. El sistema de tipo IV puede trabajar ya sea con una vía dependiente de Sec o puede trabajar sola para transportar proteínas al espacio extracelular. Las proteínas translocadas por la vía dependiente de Sec y la vía de tipo III son suministradas a estos sistemas por proteínas chaperonas. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ [eds]: *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology*, 7th ed. New York: McGraw-Hill; 2008.)

viesan la OM. Las proteínas secretadas por el sistema tipo II se transportan a través de la OM por un complejo multiproteínico (fig. 2-12). Esta es la principal vía para la secreción de las enzimas de degradación extracelular por parte de las bacterias gramnegativas. La elastasa, fosfolipasa C y exotoxina A son secretadas por este sistema en la bacteria *Pseudomonas aeruginosa.* Sin embargo, las proteínas secretadas por los sistemas tipo V se autotransportan a través de la membrana externa en virtud de una secuencia carboxilo terminal, que es eliminada por medios enzimáticos hasta la liberación de la proteína desde la membrana externa. Algunas proteínas extracelulares (p. ej., la proteasa IgA de *Neisseria gonorrhoeae* y la citotoxina que forma vacuolas de *Helicobacter pylori*) son secretadas a través de este sistema.

Las vías de secreción de tipos I y III son independientes de *sec* y por tanto no incluyen el procesamiento del extremo aminoterminal de las proteínas secretadas. La secreción de proteínas por estas vías ocurre en forma de un proceso continuo sin la presencia de un intermediario citoplásmico. La secreción de tipo I se ejemplifica con la hemolisina α de *E. coli* y la adenilil-ciclasa de la *Bordetella pertussis*. La secreción de tipo I requiere de tres proteínas secretoras: un casete de unión a ATP en la membrana interna (transportador ABC), que proporciona energía para la secreción de proteínas; una proteína de membrana externa y una proteína de difusión de membrana, que se encuentra fija a la membrana interna y abarca la totalidad del espacio periplasmático (fig. 2-12). En lugar del péptido de señalización, la información se ubica en los 60 aminoácidos del extremo carboxilo terminal de la proteína secretada.

La vía de secreción de tipo III es un sistema **dependiente del contacto**, que se activa por el contacto con una célula del hospedador y a continuación se inyecta una proteína tóxica directamente a la célula hospedadora. El aparato de secreción de tipo III está compuesto por casi 20 proteínas, la mayor par-

te de las cuales se ubican al nivel de la membrana interna. La mayor parte de estos componentes de la IM son homólogos al aparato de biosíntesis flagelar de las bacterias grampositivas y gramnegativas. Al igual que la secreción de tipo I, las proteínas secretadas por la vía de tipo III no son objeto de procesamiento en el extremo amino terminal durante su secreción.

La vía de tipo IV secreta toxinas polipeptídicas (dirigidas contra células eucariotas) o complejos de proteína-DNA ya sea entre dos células bacterianas o entre una célula bacteriana y una célula eucariota. Un ejemplo de la secreción de tipo IV es el suministro del complejo de proteína-DNA por la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* en una célula vegetal. Además, *B. pertussis* y *H. pylori* poseen sistemas de secreción tipo IV que median la secreción de la toxina de la tos ferina y el factor inductor de interleucina-8, respectivamente. La secreción de tipo VI independiente de *sec* fue descrita en fechas recientes en *P. aeruginosa*, donde contribuye a la patogenicidad en pacientes con fibrosis quística. Este sistema de secreción está compuesto por 15 a 20 proteínas cuya función bioquímica no se comprende por completo. Sin embargo, estudios recientes sugieren que algunas de tales proteínas comparten homología con proteínas de la cola de bacteriófagos.

Las características de los sistemas de secreción de proteínas de bacterias se resumen en el cuadro 9-6.

4. Funciones de biosíntesis. La membrana celular es el sitio de los lípidos transportadores sobre los cuales se ensamblan las subunidades de la pared celular (véase la revisión de la síntesis de las sustancias que forman la pared celular en el capítulo 6) así como de la biosíntesis de las enzimas de la pared celular. Las enzimas para la síntesis de fosfolípidos también se ubican en la membrana celular.

5. Sistemas quimiotácticos. Las sustancias con capacidad de atracción y repulsión se unen a receptores específicos en la membrana bacteriana (véase la sección Flagelos, adelante). Hay al menos 20 quimiorreceptores diferentes en la membrana de *E. coli*, algunos de los cuales también actúan como el primer paso en el proceso de transporte.

Pared celular

La presión osmótica interna de la mayor parte de las bacterias varía de 5 a 20 atm como consecuencia de la concentración de solutos por medio del transporte activo. En la mayor parte de los entornos, esta presión sería suficiente para hacer estallar la célula si no se contara con la presencia de una pared celular con fuerza tensil elevada (fig. 2-13). La pared celular bacteriana debe su resistencia a una capa compuesta de diversas sustancias conocidas como mureína, mucopéptidos o **peptidoglucanos** (todos son sinónimos). La estructura de los peptidoglucanos se revisa adelante.

La mayor parte de las bacterias se clasifican como grampositivas o gramnegativas con base en su respuesta al procedimiento de tinción de Gram. El procedimiento recibió su nombre por el histólogo, Hans Christian Gram, quien desarrolló este procedimiento de tinción diferencial en un intento para teñir las bacterias en tejidos infectados. La tinción de Gram depende de la capacidad de ciertas bacterias (grampositivas) para retener un complejo de cristales de color violeta (un colorante de color violáceo) además de yodo después de un breve lavado con alcohol o acetona. Las bacterias gramnegativas no retienen el complejo de colorante-yodo y se vuelven translúcidas, pero pueden volverse

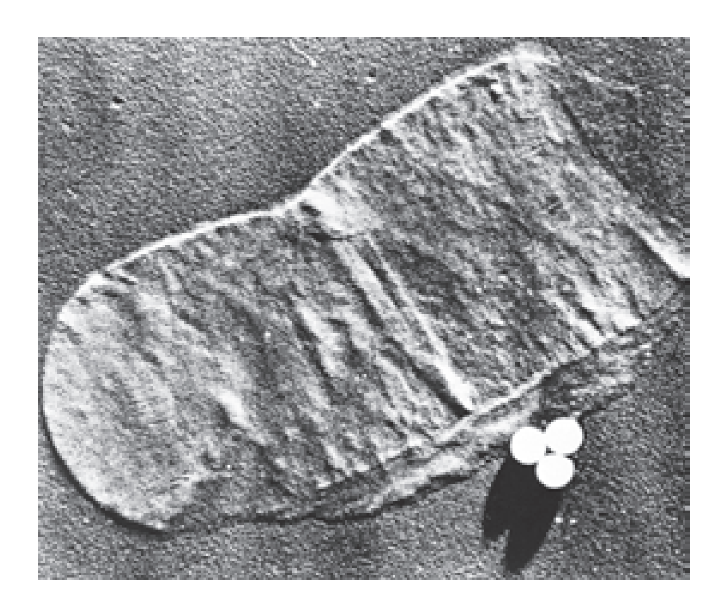


FIGURA 2-13 Pared celular aislada de una bacteria grampositiva. Pared de peptidoglucano de *Bacillus megaterium*, una bacteria grampositiva. Las esferas de látex tienen un diámetro de 0.25 μm. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ [eds]: *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology*, 7th ed. New York: McGraw-Hill; 2008.)

a teñir con safranina (un colorante de color rojo). Así, las bacterias grampositivas adquieren un aspecto violáceo bajo el microscopio, en tanto que las bacterias gramnegativas se ven de color rojo. La diferenciación entre estos dos grupos refleja diferencias fundamentales en sus envolturas celulares (fig. 2-14).

Además de brindar protección osmótica, la pared celular desempeña una función esencial en la división celular, también sirve como preparador para su propia biosíntesis. Varias capas de la pared son sitios de determinantes antigénicos mayores de la superficie celular y uno de sus componentes (los lipopolisacáridos de las paredes celulares de bacterias gramnegativas) son causantes de la actividad endotóxica inespecífica de las bacterias gramnegativas. En términos generales, la pared celular no muestra permeabilidad selectiva; sin embargo, una capa de la pared gramnegativa (la membrana externa) evita el paso de moléculas relativamente grandes (véase más adelante).

La biosíntesis de la pared celular y los antibióticos que interfieren en el proceso se revisan en el capítulo 6.

A. Capa de peptidoglucanos

El peptidoglucano es un polímero complejo que consiste, con fines de descripción, de tres partes: una estructura básica, compuesta de moléculas alternadas de *N*-acetilglucosamina y de ácido *N*-acetilmurámico y un grupo idéntico de enlaces peptídicos cruzados (fig. 2-15). La estructura básica es la misma en todas las especies bacterianas; las cadenas tetrapeptídicas laterales y los enlaces peptídicos varían de una especie a otra; la figura 2-15 ilustra la disposición para *Staphylococcus aureus*. En muchas paredes celulares de bacterias gramnegativas, los enlaces cruzados consisten de unión peptídica directa entre el grupo amino de una cadena lateral del ácido diaminopimélico (DAP) y el grupo carboxilo terminal de la cadena secundaria lateral de D-alanina.

Las cadenas laterales tetrapeptídicas de todas las especies tienen ciertas características importantes en común. La mayor

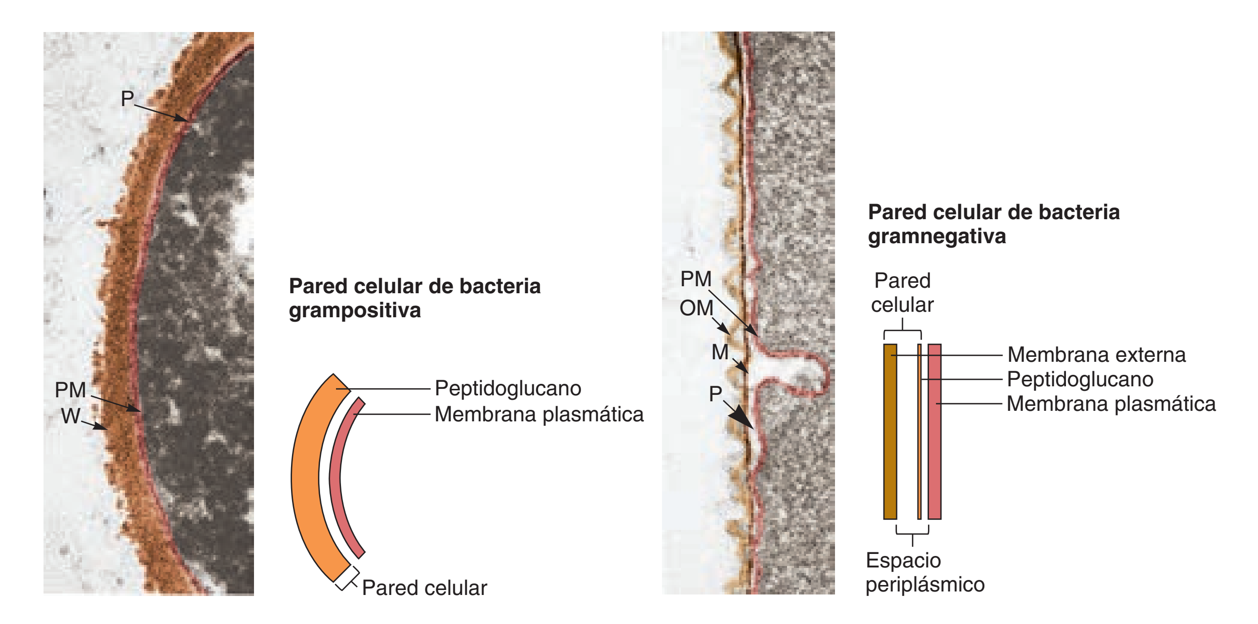


FIGURA 2-14 Pared celular de bacterias grampositivas y gramnegativas. La envoltura de la bacteria grampositiva corresponde a *Bacillus licheniiformis* (*izquierda*) y la micrografía de la bacteria gramnegativa corresponde a *Aquaspirillum serpens* (*derecha*). M; peptidoglucano o capa de mureína; OM, membrana externa; IM, membrana plasmática; P, espacio periplásmico; W, pared de peptidoglucano de la bacteria grampositiva. (Reproducida con autorización de T. J. Beveridge/Biological Photo Service.)

parte tiene L-alanina en la posición 1 (unida al ácido *N-acetilmurámico*), D-glutamato o la sustitución de D-glutamato en la posición 2 y D-alanina en la posición 4. La posición 3 es la más variable: la mayor parte de las bacterias gramnegativas tienen ácido diaminopimélico u otro aminoácido en dicha posición.

El **ácido diaminopimélico** es un elemento singular en las paredes celulares bacterianas; nunca se encuentra en las paredes celulares de las arqueobacterias o de células eucariotas; es el precursor inmediato de la glicina en la biosíntesis bacteriana de dicho aminoácido (fig. 6-18). Los mutantes bacterianos que son bloqueados antes de la síntesis de ácido diaminopimélico por lo común proliferan de forma normal cuando se encuentra dicho ácido en su entorno; cuando se administra L-glicina sola se destruyen, porque continúan proliferando pero son específicamente incapaces de sintetizar nuevo peptidoglucano para su pared celular.

El hecho de que las cadenas de peptidoglucanos tengan enlaces cruzados significa que cada capa de peptidoglucanos tiene una sola molécula gigante. En una bacteria grampositiva hay hasta 40 hojas de peptidoglucanos, lo que constituye hasta 50% del material de la pared celular; en las bacterias gramnegativas parece haber sólo una o dos hojas, lo que constituye 5 a 10% del material de la pared. La bacteria adquiere su forma, que es característica para cada especie en particular, por la estructura de su pared celular.

B. Componentes especiales de las paredes celulares de bacterias grampositivas

La mayor parte de las paredes celulares de las bacterias grampositivas contienen cantidades considerables de **ácidos teicoico** y **teicurónico**, los cuales pueden constituir hasta 50% del peso seco de la pared y 10% del peso seco de la totalidad de la célula. Además, algunas paredes de bacterias grampositivas pueden contener moléculas de polisacáridos.

1. Ácidos teicoico y teicurónico. El término ácido teicoico abarca la totalidad de la pared celular, membrana o polímeros capsulares que contienen glicerofosfato o residuos de ribitol fosfato. Estos polialcoholes están conectados por enlaces fosfodiéster y por lo común se encuentran unidos con otros carbohidratos y con D-alanina (fig. 2-16A). Como tienen carga negativa, el ácido teicoico es en parte la causa de la carga negativa de la superficie celular en su conjunto. Hay dos tipos de ácidos teicoico: **ácido teicoico de la pared** (WTA, *wall teichoic acid*) que tiene unión covalente con los peptidoglucanos y **ácido teicoico de la membrana** que tiene unión covalente con glucolípidos de la membrana. Como estos últimos tienen asociación estrecha con los lípidos, también se han denominado **ácidos lipoteicoicos** (LTA, *lipoteichoic acids*). En conjunto con los peptidoglucanos, WTA y LTA constituyen una red polianiónica o matriz que proporciona funciones relacionadas con la elasticidad, porosidad, fuerza tensil y propiedades electrostáticas de la envoltura. No todas las bacterias grampositivas tienen LTA y WTA convencionales, pero aquellas que carecen de tales polímeros por lo común son similares desde el punto de vista funcional.

La mayor parte de los ácidos teicoicos contienen grandes cantidades de D-alanina, por lo común unida a la posición 2 o 3 de glicerol o a la posición 3 o 4 del ribitol. En algunos ácidos teicoicos más complejos la D-alanina se une a uno de los residuos de azúcar. Además de la D-alanina, otros sustitutos pueden unirse a los grupos hidroxilo libres del glicerol y ribitol, por ejemplo, glucosa, galactosa, *N*-acetilglucosamina, *N*-acetilgalactosamina o succinato. Una especie dada puede tener más de un tipo de azúcar sustituto además de la D-alanina; en tales casos, no se sabe si los diferentes carbohidratos se presentan en la misma molécula o en moléculas separadas de ácido teicoico. La composición del ácido teicoico formado por una especie bacteriana dada puede variar con la composición del medio en el cual es cultivada.

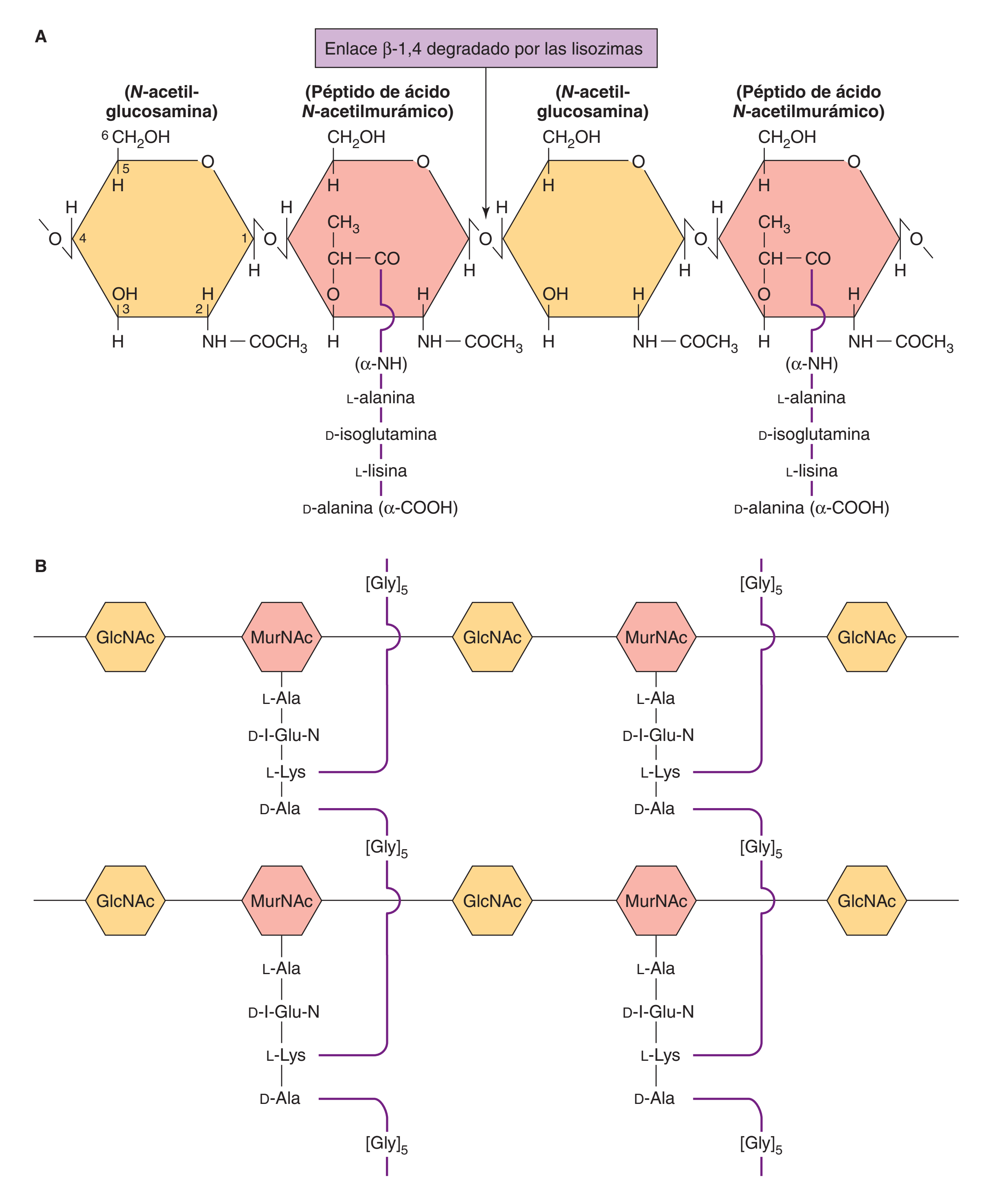


FIGURA 2-15 A: Segmento de peptidoglucano de *Staphylococcus aureus*. El esqueleto del polímero consiste de subunidades alternadas de *N*-acetil-glucosamina y de ácido *N*-acetilmurámico conectados por enlaces β1→4. Los residuos de ácido murámico se unen a péptidos cortos y la composición de éstos varía de un género bacteriano a otro. En algunos géneros bacterianos, los residuos de L-lisina se sustituyen con ácido diaminopimélico, un aminoácido que se encuentra en estado natural sólo en las paredes de células procariotas. Los D-aminoácidos son constituyentes característicos de las paredes de células procariotas. Las cadenas peptídicas de peptidoglucano forman enlaces cruzados entre estructuras de polisacáridos en paralelo, como se muestra en la figura 2-15B. **B:** Representación esquemática de un entramado de peptidoglucanos que se forma por medio de enlaces cruzados. Los puentes compuestos por cadenas peptídicas de pentaglicina conectan los residuos carboxilo-α de los residuos terminales de D-alanina en una cadena con un grupo ε-amino de residuos de L-lisina de la siguiente cadena. La naturaleza de los enlaces cruzados varía entre los diferentes géneros bacterianos.

Los ácidos teicoicos constituyen la principal superficie de los antígenos de aquellas especies de bacterias grampositivas que los poseen y su accesibilidad para los anticuerpos se ha tomado como evidencia de que se encuentran en la superficie externa del peptidoglucano. Sin embargo, su actividad a menudo se incrementa por la digestión parcial de este último; así, gran parte del ácido teicoico puede encontrarse entre la membrana citoplásmica y la capa del peptidoglucano, tal vez extendiéndose

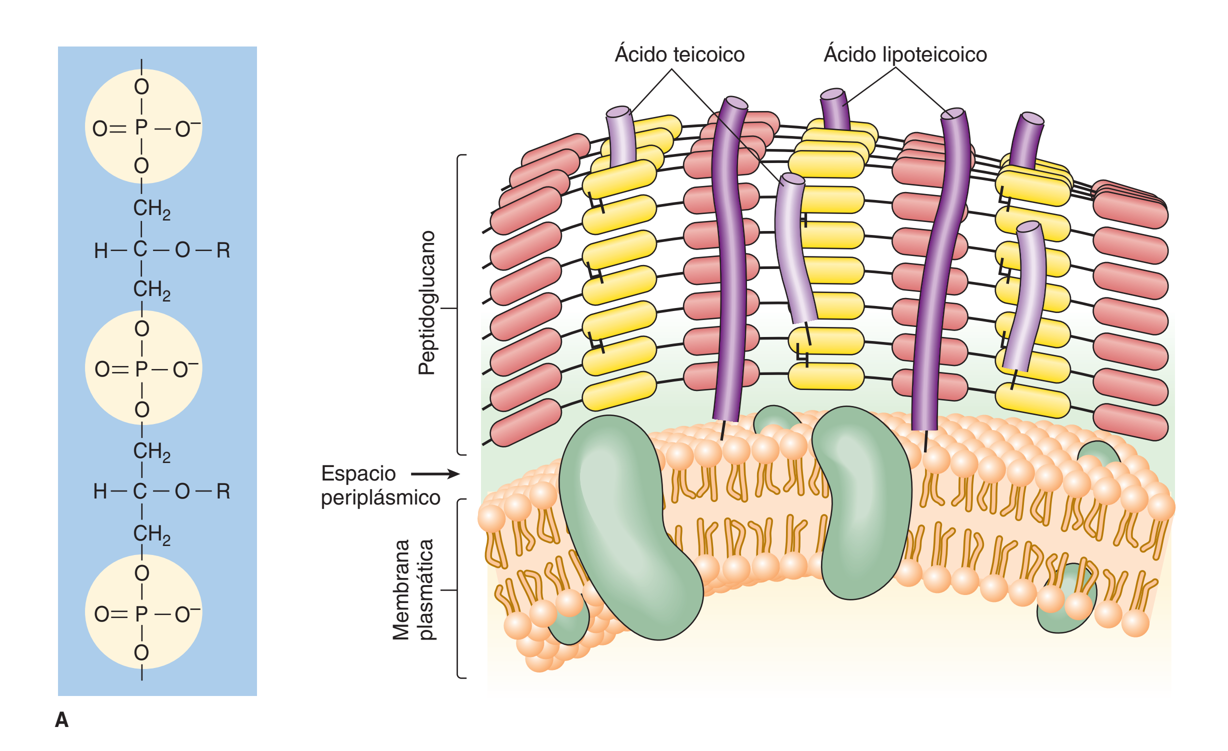


FIGURA 2-16 **A:** Estructura del ácido teicoico. Segmento de ácido teicoico constituido por fosfato, glicerol y una cadena lateral, R. R puede representar a D-alanina, glucosa u otras moléculas. **B:** Ácidos teicoico y lipoteicoico de una envoltura de una bacteria grampositiva. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ [eds]: *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology*, 7th ed. New York: McGraw-Hill; 2008.)

a través de los poros formados en esta última (fig. 2-16B). En el neumococo (*Streptococcus pneumoniae*) los ácidos teicoicos portan antígenos determinantes llamados antígeno Forssman. En el *Streptococcus pyogenes*, LTA se asocia con la proteína M que protruye desde la membrana celular a través de la capa de peptidoglucanos. Las largas moléculas de proteína M junto con LTA forman microfibrillas que facilitan la unión de *S. pyogenes* a las células animales.

Los **ácidos teicurónicos** son polímeros similares, pero repiten unidades, lo que incluye carbohidratos ácidos (como *N*-acetilmanosurónico o ácido D-glucosurónico) en lugar de ácido fosfórico. Se sintetizan en lugar de los ácidos teicoicos cuando hay limitación en la disponibilidad de fosfato.

2. Polisacáridos. La hidrólisis de paredes celulares de bacterias grampositivas de ciertas especies ha permitido la obtención de carbohidratos neutros como manosa, arabinosa, ramnosa y glucosamina, así como azúcares ácidos como el ácido glucurónico y ácido manurónico. Se ha propuesto que dichos carbohidratos existen como subunidades de polisacáridos en la pared celular; sin embargo, el descubrimiento de que los ácidos teicoico y teicurónico pueden contener diversos carbohidratos hace incierto el origen de tales azúcares (fig. 2-16A).

C. Componentes especiales de las paredes celulares de bacterias gramnegativas

Las paredes celulares de bacterias gramnegativas contienen tres componentes que se encuentran fuera de la capa de peptidoglucanos: lipoproteínas, membrana externa y lipopolisacáridos (fig. 2-17).

1. Membrana externa. La membrana externa es diferente desde el punto de vista químico de todas las demás membranas biológicas. Es una estructura con bicapa cuya hoja interna tiene una composición similar a la de la membrana celular, en tanto que la hoja externa contiene constituyentes diferentes, **lipopolisacáridos** (LPS, *lipopolysaccharide***)** (véase adelante). Como consecuencia, las hojas de esta membrana son asimétricas y las propiedades de esta bicapa difiere considerablemente de las que se observan en las membranas biológicas simétricas, como en las membranas celulares.

La capacidad de la membrana externa para que excluya moléculas hidrófobas es una característica poco común entre las membranas biológicas y sirve para proteger a la célula (en el caso de bacterias entéricas) de sustancias nocivas, como las sales biliares. Por su naturaleza lipídica, es de esperarse que la membrana externa excluya también a moléculas hidrofílicas. Sin embargo, dicha membrana posee conductos especiales, formados por proteínas denominadas **porinas**, que permiten la difusión pasiva de compuestos hidrofílicos de bajo peso molecular como azúcares, aminoácidos y ciertos iones. Las moléculas grandes de antibióticos penetran la membrana externa con relativa lentitud, lo que explica la resistencia relativamente elevada a los antibióticos de las bacterias gramnegativas. La permeabilidad de la membrana externa varía ampliamente de un género bacteriano a otro; por ejemplo, *P. aeruginosa* es extremadamente resistente a los fármacos antibacterianos y tiene una membrana externa que es 100 veces menos permeable que la de *E. coli*.

Las proteínas principales de la membrana externa reciben su nombre con base en los genes que las codifican, y se han clasificado en varias categorías funcionales con base en los mutantes

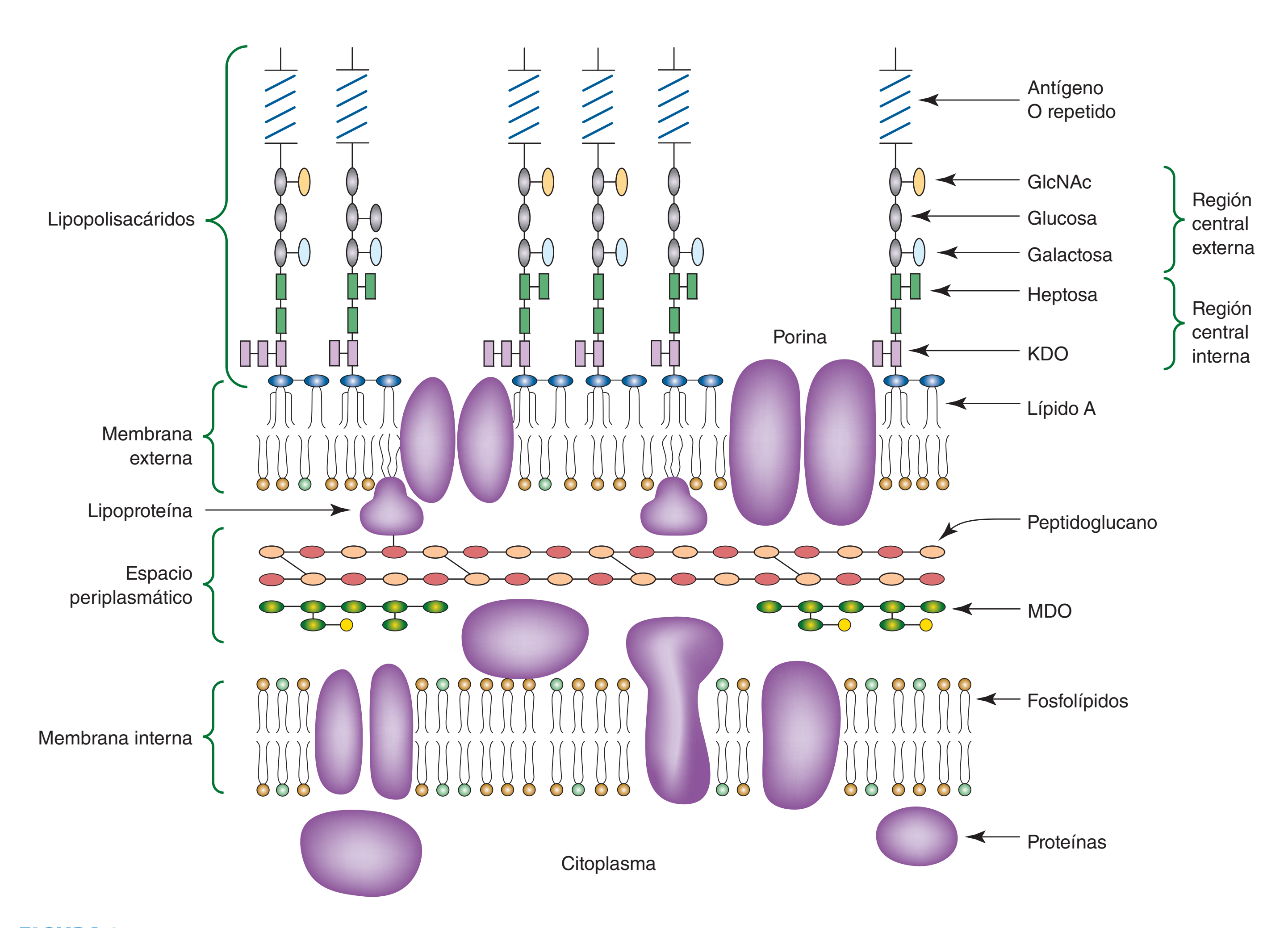


FIGURA 2-17 Representación molecular de la envoltura de una bacteria gramnegativa. Los óvalos y rectángulos representan residuos de carbohidratos; los círculos ilustran el extremo polar de los grupos de los glicerofosfolípidos (fosfatidiletanolamina y fosfatidilglicerol). (MDO, oligosacáridos derivados de la membrana). Las regiones centrales que se muestran corresponden a *Escherichia coli* K-12, una cepa que en condiciones normales no contiene un antígeno O repetido a menos que se transforme con un plásmido apropiado. (Reproducida con autorización de Raetz CRH: Bacterial endotoxins: Extraordinary lipids that activate eucaryotic signal transduction. J Bacteriol 1993;175:5745.)

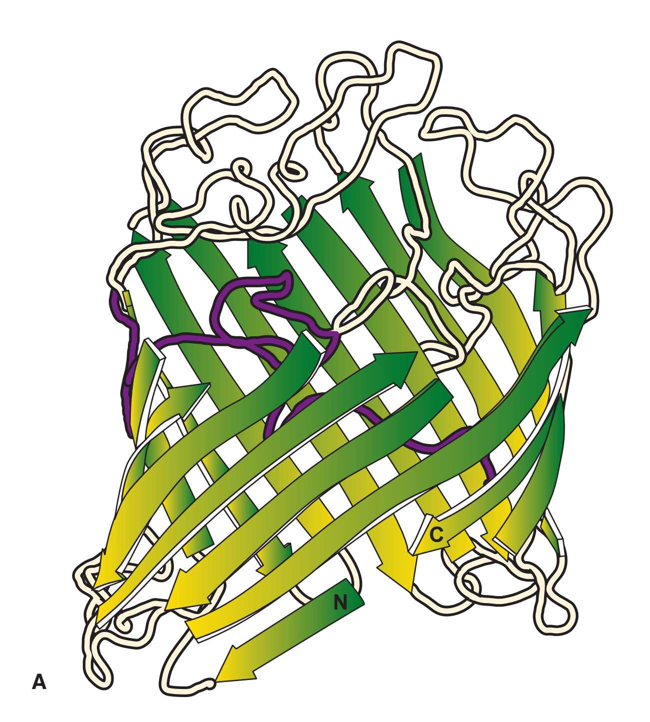
que carecen de las mismas y con base en experimentos en los cuales se han reconstituido proteínas purificadas en membranas artificiales. Las porinas, ejemplificadas por OmpC, D, y F y por PhoE de *E. coli* y de *Salmonella typhimurium* son proteínas triméricas que penetran ambas capas de la membrana externa (fig. 2-18). Forman poros relativamente inespecíficos que permiten la libre difusión de solutos hidrofílicos pequeños a través de la membrana. Las porinas de diferentes géneros bacterianos tienen diferentes límites de exclusión, que van desde pesos moleculares de casi 600 en *E. coli* y *S. typhimurium* a más de 3 000 en *P. aeruginosa*.

Los miembros de un segundo grupo de proteínas de la membrana externa, que se comportan como porinas en muchas formas se ejemplifican con LamB y Tsx. La primera es una porina inducible que también actúa como receptor para el bacteriófago lambda y que participa en la mayor parte de la difusión transmembrana de maltosa y maltodextrinas; Tsx, el receptor para el bacteriófago T6 participa en la difusión transmembrana de nucleósidos y de algunos aminoácidos. LamB permite el paso de otros solutos; sin embargo, su relativa especificidad puede reflejar debilidad en las interacciones de solutos con sitios específicos de configuración en el conducto.

La proteína OmpA es una proteína abundante en la membrana externa. Participa en la fijación de la membrana externa a la capa de peptidoglucanos y también se encuentra en el pelo sexual receptor de la conjugación bacteriana mediada por F (cap. 7).

La membrana externa también contiene un grupo de proteínas menos abundantes que participan en el transporte de moléculas específicas, como vitamina B_{12} y complejos de hierro-sideróforo. Muestran gran afinidad por sus sustratos y probablemente actúen como sistemas de transporte en forma de acarreadores clásicos de la membrana citoplásmica. Para el funcionamiento correcto de estas proteínas se requiere energía acoplada a través de una proteína denominada TonB. Las proteínas menores adicionales incluyen un número limitado de enzimas, entre ellas las fosfolipasas y proteasas.

En la figura 2-17 se muestra la topología de las principales proteínas de la membrana externa, basada en estudios de enlaces cruzados y análisis de relaciones funcionales. La membrana externa se conecta a la capa de peptidoglucanos y a la membrana citoplásmica. La conexión con la capa de peptidoglucanos está mediada principalmente por lipoproteínas de la membrana externa (véase adelante). Casi una tercera parte de las moléculas de



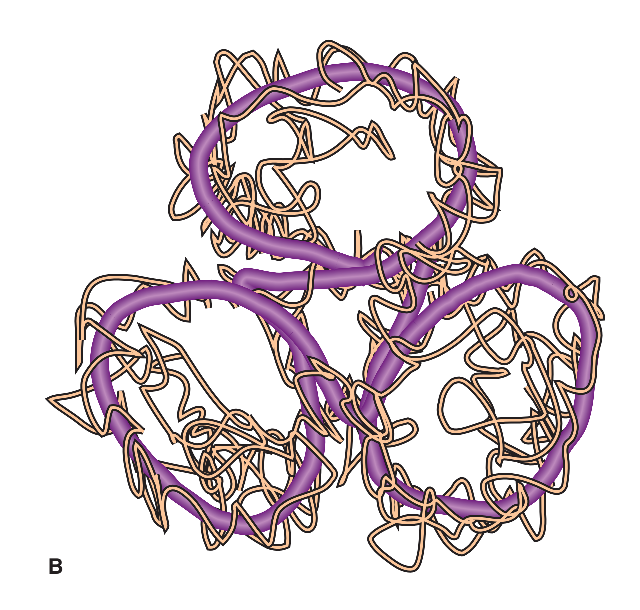


FIGURA 2-18 **A:** Plegamiento general de un monómero de porina (porina OmpF de *Escherichia coli*). El gran hueco en la estructura cilíndrica β se forma por la disposición antiparalela de tiras 16 β. Las tiras se conectan por asas cortas o patrones regulares en el borde periplásmico (porción inferior de la figura) y grandes asas irregulares en el exterior de la célula (porción superior de la figura). El asa interna conecta las tiras β 5 y 6 y se extiende hacia el interior del cilindro, lo que se resalta en color oscuro. Se marcaron las cadenas terminales. La superficie más cercana al observador participa en las subunidades de contacto. **B.** Representación esquemática del trímero OmpF. Se observa desde el espacio extracelular sobre su eje de simetría trirradiado. (Reproducida con autorización de Schirmer T: General and specific porins from bacterial outer membranes. J Struct Biol 1998;121:101.)

lipoproteínas tienen enlace covalente con los peptidoglucanos y ayudan a mantener las estructuras juntas. Una asociación no covalente de algunas de las porinas en la capa del peptidoglucano desempeña una función menor en conectar las membranas externas con esta estructura. Las proteínas de la membrana externa se sintetizan en los ribosomas unidos a la superficie citoplásmica de la membrana celular; sin embargo, aún se desconoce la forma en que se transfieren a la membrana externa, una hipótesis sugiere que la transferencia ocurre en zonas de adhesión entre las membranas citoplásmica y externa, lo que puede observarse en la microscopia electrónica. Por desgracia, se ha demostrado que es difícil obtener evidencias firmes de la adhesión a tales áreas.

2. Lipopolisacáridos (LPS). Los LPS de las paredes celulares de bacterias gramnegativas consisten en un glucolípido complejo, denominado lípido A, el cual está unido a un polisacárido constituido por una porción central y series terminales de unidades repetidas (fig. 2-19A). El lípido A se encuentra embebido en la hoja externa de la membrana a la cual se unen los LPS. Estos últimos se sintetizan en la membrana citoplásmica y se transportan a su posición exterior final. La presencia de LPS es necesaria para la función de muchas proteínas de la membrana externa.

El **lípido A** consiste en unidades de disacárido de glucosamina fosforilada a la cual se unen varios ácidos grasos de cadena larga (fig. 2-19). El ácido hidroximirístico β es un ácido graso de 14 carbonos que siempre está presente y es característico de este lípido; los otros ácidos grasos, junto con sus grupos sustitutos de fosfatos, varían de acuerdo al género bacteriano.

En la figura 2-19A y B se muestra la **región central** del polisacárido; éste es similar en la mayor parte de los géneros de bacterias gramnegativas que tienen LPS e incluyen dos azúcares característicos, el **ácido cetodesoxioctanoico** (KDO, *ketodeoxyoctanoic acid*) y una heptosa. Sin embargo, cada género bacteriano contiene una unidad de repetición singular y en la figura 2-19A se muestra la que se encuentra en bacterias del género *Salmonella*. Las unidades de repetición por lo común son disacáridos, tetrasacáridos o pentasacáridos lineales o ramificados. Las unidades de repetición se conocen como antígeno O. Las cadenas de carbohidratos hidrofílicos del antígeno O cubren la superficie bacteriana y excluyen los compuestos hidrófobos.

Las moléculas de LPS con carga negativa forman enlaces no covalentes por medio de cationes divalentes (p. ej., Ca^{2+} y Mg^{2+}); esto estabiliza la membrana y proporciona una barrera para las moléculas hidrófobas. El retiro de los cationes divalentes con sustancias quelantes o por el desplazamiento con antibióticos policatiónicos, como las polimixinas y aminoglucósidos, hacen permeable la membrana externa a las moléculas hidrófobas grandes.

Los LPS que son extremadamente tóxicos para los animales se denominan **endotoxinas** de bacterias gramnegativas porque se encuentran firmemente unidas a la superficie celular y se liberan sólo cuando las células sufren lisis. Cuando los LPS se desdoblan en polisacáridos y lípido A, toda la toxicidad se relaciona con este último. El antígeno O es muy inmunógeno en animales vertebrados. Se confiere especificidad antigénica por el antígeno O porque el antígeno es muy variable entre las especies e incluso en cepas de una misma especie. El número de posi-

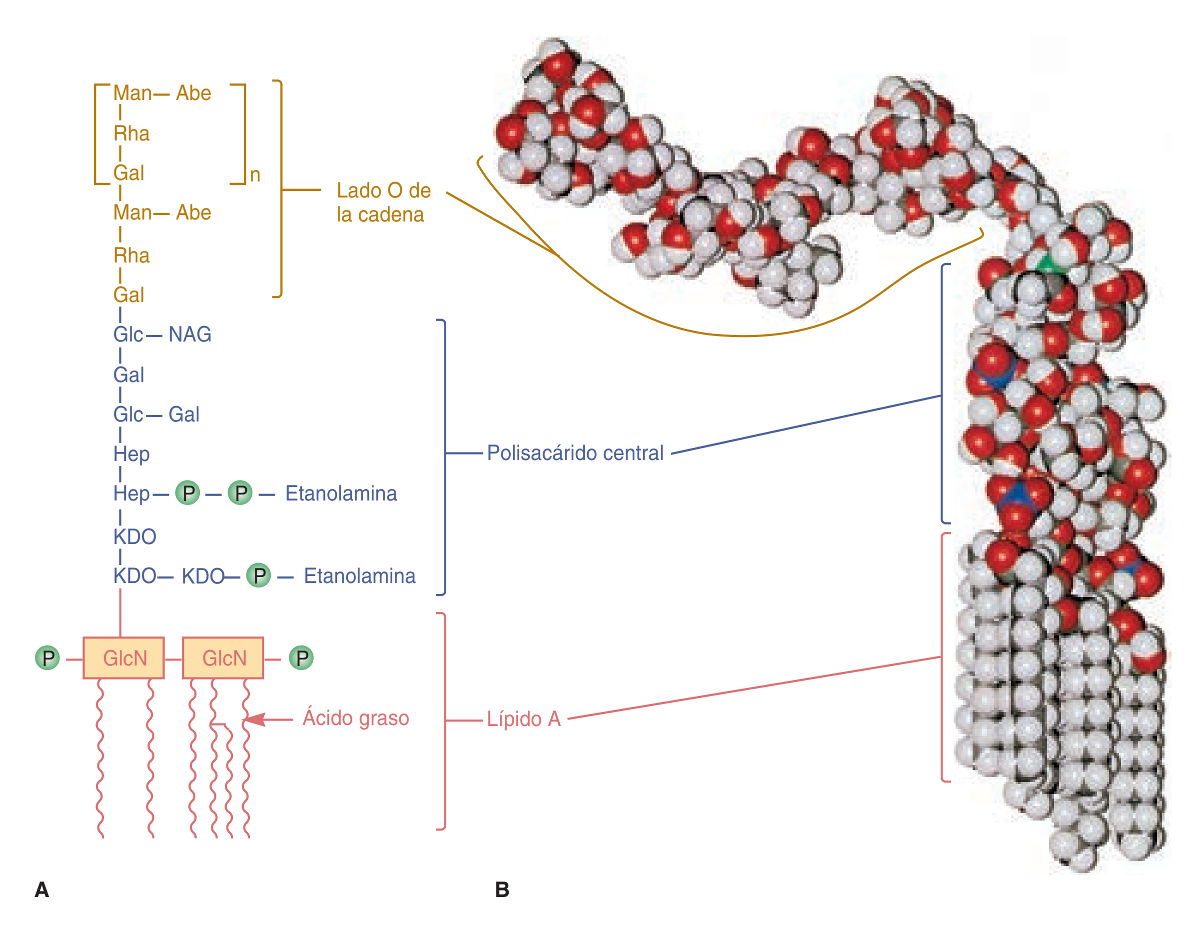


FIGURA 2-19 Estructura de los lipopolisacáridos. **A:** Lipopolisacárido de *Salmonella*. Este esquema ligeramente simplificado ilustra una forma de lipopolisacárido (Abe, abecuosa; Gal, galactosa; GlcN, glucosamina; Hep, heptulosa; KDO, 2-ceto-3 desoxioctonato; Man, manosa; NAG, *N*-acetilglucosamina; P, fosfato; Rha, L-ramnosa). El lípido A se encuentra sepultado en la membrana externa. **B:** Modelo molecular de lipopolisacárido de *Escherichia coli*. El lípido A y los polisacáridos centrales tienen una disposición recta; el lado O de la cadena se encuentra doblado en ángulo en este modelo. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ [eds]: *Prescott, Harley, & Klein's Microbiology*, 7th edition, McGraw-Hill; 2008.)

bles tipos antigénicos es muy grande: solamente de *Salmonella* se han identificado más de 1 000. No todas las bacterias gramnegativas tienen LPS en la membrana externa compuesta por números variables de unidades repetidas de oligosacáridos (fig. 2-19); los glucolípidos de la membrana externa de las bacterias que colonizan las superficies mucosas (p. ej., *Neisseria meningitidis, N. gonorrhoeae, Haemophilus influenzae* y *Haemophilus ducreyi*) poseen glucanos relativamente cortos, ramificados. Estos glucolípidos más pequeños se han comparado con las estructuras truncadas de LPS de "tipo R", que carecen de antígeno O y que son producidos por mutantes de bacterias entéricas como *E. coli*. Sin embargo, sus estructuras semejan más estrechamente aquellas de los glucoesfingolípidos de las membranas celulares de mamíferos y que se denominan de manera más apropiada como **lipooligosacáridos** (LOS, *lipooligosaccharides*). Tales moléculas muestran diversidad antigénica y estructural incluso en una sola cepa. Los lipooligosacáridos son un factor importante de virulencia. Se han identificado epitopos en todos los LOS que simulan estructuras del hospedador y que pueden permitir que estos microorganismos eviten la respuesta inmunitaria del hospedador. Algunos LOS (p. ej., los de *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis* y *H. ducreyi*) poseen residuos de *N*-acetillactosamina (Galβ-1→4-GlcNAc) que son similares desde el punto inmunoquímico a los precursores del antígeno i de los eritrocitos humanos. En presencia de una enzima bacteriana denominada sialiltransferasa y sustrato bacteriano o del hospedador (ácido monofosfo-*N*-acetilneuramínico-citidina; CMP-NANA) los residuos de *N*-acetillactosamina se encuentran sialilados. Este proceso ocurre *in vivo* y proporciona a los microorganismos en el entorno ventajas de simulación molecular con los antígenos del hospedador y hay un ocultamiento biológico a través del ácido siálico presente.

3. Lipoproteínas. Las moléculas poco comunes de **lipoproteínas** unen la membrana externa con las capas de peptidoglucanos (fig. 2-17). Las lipoproteínas contienen 57 residuos de aminoácidos y constituyen repeticiones de secuencias de 15 aminoácidos; presentan enlaces peptídicos con residuos de DAP de las cadenas laterales de tetrapéptidos de peptidoglucanos. El componente lipídico consiste de tioéter de diglicérido unido a un residuo de cisteína terminal que forma un enlace no covalente con la membrana externa. Las lipoproteínas son la proteína más abundante desde el punto de vista numérico en las células gramnegativas (casi 700 000 moléculas por célula). Su función (que se infiere por la conducta de células mutantes que carecen de ellas) es estabilizar la membrana externa y fijarla a la capa de peptidoglucano.

4. Espacio periplásmico. El espacio entre las membranas interna y externa, conocido como **espacio periplásmico** contie-

ne la capa de peptidoglucano y una solución de proteínas que se comporta como un gel. El espacio periplásmico representa casi 20 a 40% del volumen celular, lo que de ninguna manera es insignificante. Las proteínas periplásmicas incluyen proteínas fijadoras de sustratos específicos (p. ej., aminoácidos, azúcares, vitaminas, y iones), enzimas hidrolíticas (p. ej., fosfatasa alcalina y 5′-nucleotidasa) que se desdoblan en sustratos no transportables hacia otros transportables además de incluir enzimas destoxificadoras (p. ej., lactamasa β y fosforilasa de aminoglucósidos) que inactivan ciertos antibióticos. El espacio periplásmico también contiene altas concentraciones de polímeros muy ramificados de D-glucosa con ocho a 10 residuos de longitud que han sustituido en varios sitios con fosfato de glicerol y residuos de fosfatidiletanolamina; algunos contienen ésteres de O-succinilo. Tales compuestos denominados **oligosacáridos derivados de la membrana** parecen participar en la regulación osmótica, porque las células que crecen en medios con baja osmolaridad incrementan su síntesis de estos compuestos en 16 veces.

D. Pared celular de bacterias acidorresistentes

Algunas bacterias, entre las que sobresale el bacilo tuberculoso (*M. tuberculosis*) y bacterias relacionadas poseen paredes celulares que contienen grandes cantidades de **ceras**, que consisten de hidrocarbonos ramificados complejos (con longitudes de 70 a 90 carbonos) conocidos como **ácidos micólicos**. La pared celular está compuesta de peptidoglucanos y una bicapa lipídica asimétrica externa; la hoja interna contiene ácidos micólicos unidos a arabinoglucanos y la hoja externa contiene otros lípidos extraíbles. Es una bicapa lipídica muy ordenada, en la cual las proteínas se encuentran embebidas formando poros llenos de agua a través de los cuales pasan con lentitud ciertos fármacos y nutrientes. Algunos compuestos también pueden penetrar los dominios lipídicos de la pared celular, aunque con gran lentitud. La estructura hidrófoba confiere a estas bacterias resistencia a muchos compuestos químicos como detergentes y ácidos fuertes. Si se introduce un colorante en estas células por un proceso de calentamiento breve o el tratamiento con detergentes, no puede eliminarse con la aplicación de ácido clorhídrico diluido, como ocurre con otras bacterias. Dichos microorganismos se denominan **acidorresistentes**. La permeabilidad de la pared celular a las moléculas hidrofílicas es de 100 a 1 000 veces inferior que para *E. coli,* lo que puede explicar la tasa de crecimiento lenta de las micobacterias.

E. Pared celular de las arqueobacterias

Las arqueobacterias no poseen paredes celulares como las bacterias. Algunas poseen una capa S simple (véase adelante) a menudo constituida por glucoproteínas. Algunas arqueobacterias tienen pared celular rígida compuesta de polisacáridos o de un peptidoglucano conocido como **seudomureína**. Esta última difiere de los peptidoglucanos de las bacterias porque tiene aminoácidos levógiros (L-) en lugar de aminoácidos dextrógiros (D-) y unidades de disacáridos con enlaces α-1→3 en vez de β-1→4. Las arqueobacterias que tienen una pared celular de seudomureína son grampositivas.

F. Capas superficiales cristalinas

Muchas bacterias, tanto grampositivas, gramnegativas y arqueobacterias, poseen una capa bidimensional de subunidades cristalinas con disposición en entramado formada por proteínas o glucoproteínas (**capa S**) como los componentes más externos de la envoltura celular. En bacterias grampositivas y gramnegativas esta estructura en ocasiones tiene el grosor de varias moléculas. En algunas arqueobacterias sólo existe una capa externa a la membrana celular.

Las capas S por lo general están compuestas por una molécula proteínica de un solo tipo, en ocasiones con carbohidratos unidos a ésta. Las moléculas aisladas son capaces de ensamblarse a sí mismas, es decir forman hojas similares o idénticas a las que presentan las células. Las proteínas de la capa S son resistentes a las enzimas proteolíticas y a los agentes desnaturalizadores de proteínas. La función de la capa S es incierta pero probablemente sea protectora. En algunos casos se ha demostrado que protege a la célula de las enzimas que degradan la pared celular, de la invasión por *Bdellovibrio bacteriovorous* (una bacteria depredadora) y de bacteriófagos. También participan en la conservación de la forma celular en algunas especies de arqueobacterias y pueden participar en la adhesión celular a las superficies epidérmicas del hospedador.

G. Enzimas que atacan la pared celular

El enlace β1→4 de la estructura básica de los peptidoglucanos sufre hidrólisis por acción de la enzima **lisozima**, que se encuentra en las secreciones animales (lágrimas, saliva, secreciones nasales), así como en la clara del huevo. En bacterias grampositivas tratadas con lisozimas en medios de lisis con baja concentración osmótica, si la fuerza osmótica del medio de cultivo se incrementa para equilibrarla con la presión osmótica interna de la célula, se liberan cuerpos esféricos conocidos como **protoplastos**. La membrana externa de las paredes celulares de bacterias gramnegativas evita el acceso de las lisozimas a menos que haya alteración por agentes como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), un compuesto que causa quelación de cationes divalentes; en medios de cultivo protegidos desde el punto de vista osmótico, las células tratadas con EDTA-lisozimas dan origen a **esferoplastos** que aún poseen residuos de complejos de pared celular gramnegativa, lo que incluye la membrana externa.

Las bacterias por sí mismas poseen varias **autolisinas**, enzimas hidrolíticas que desdoblan a los peptidoglucanos, lo que incluye muramidasas, glucosaminidasas, en repetidas asas y carboxipeptidasas. Tales enzimas catalizan el recambio o desdoblamiento de peptidoglucanos en bacterias; además, se presume que participan en el crecimiento de la pared celular y en el recambio y separación celulares, pero su actividad es más aparente durante la disolución de células muertas (autólisis).

Las enzimas que degradan la pared celular bacteriana también se encuentran en células que digieren la totalidad de la bacteria, por ejemplo protozoarios y células fagocíticas de animales superiores.

H. Crecimiento de la pared celular

Para la división celular es necesaria la síntesis de la pared celular; sin embargo, la incorporación de nuevo material de la pared celular varía con la forma de la bacteria. Las bacterias en forma de bacilos (p. ej., *E. coli*, *Bacillus subtilis*) tienen dos modos de síntesis de la pared celular; se introducen nuevos peptidoglucanos con un patrón helicoidal, lo que da origen a la formación de un tabique de división. Los cocos como *S. aureus* no parecen sufrir un modo de elongación para la síntesis de la pared celular.

En su lugar se insertan nuevas moléculas de peptidoglucano en el sitio de división. Una tercera forma de crecimiento de la pared celular se ejemplifica con *S. pneumoniae*, que no es un verdadero coco, porque su forma no es completamente redonda, sino que tiene un aspecto ligeramente ovalado. *S. pneumoniae* sintetiza nueva pared celular al nivel del tabique, pero también en la región denominada anillos ecuatoriales (fig. 2-20).

I. Protoplastos, esferoplastos y formas L

La eliminación de la pared bacteriana puede lograrse con hidrólisis con lisozimas o al bloquear la síntesis de peptidoglucano con un antibiótico como penicilinas. En los medios de cultivo con protección osmótica, tales tratamientos liberan **protoplastos** en las células bacterianas grampositivas y **esferoplastos** de las gramnegativas (los esferoplastos retienen la membrana externa y peptidoglucano retenido).

Si tales células son capaces de crecer y dividirse, se denominan **formas L**, y son difíciles de cultivar, por lo común requieren un medio de cultivo sólido con agar, además de encontrarse en un medio con la concentración osmótica adecuada. Las formas L se producen con mayor facilidad con la administración de penicilina que con lisozimas, lo que sugiere la necesidad de peptidoglucanos residuales.

Algunas formas L pueden cambiar a su forma basilar normal al eliminar el estímulo inductor. Así, son capaces de reiniciar la síntesis normal de la pared celular. Otras son estables y nunca presentan reversión. El factor que determina su capacidad para la reversión puede, de nuevo, ser la presencia de peptidoglucano residual, el cual en condiciones normales actúa como cebador para su propia biosíntesis.

Algunos géneros bacterianos producen formas L de manera espontánea. La formación espontánea o inducida por antibióticos de formas L en el hospedador puede producir infecciones crónicas, en la cual los microorganismos persistentes son secuestrados en regiones protegidas del cuerpo. Como las infecciones por formas L son relativamente resistentes al tratamiento con antibióticos, constituyen problemas especiales en la quimioterapia. Su reversión a la forma basilar puede producir recaídas de infecciones evidentes.

J. Micoplasmas

Los **micoplasmas** son bacterias que carecen de pared y que no contienen peptidoglucano. Hay también arqueobacterias carentes de pared, pero se les ha estudiado menos. El análisis genómico coloca los micoplasmas cerca de las bacterias grampositivas, a partir de las cuales se derivaron. Los micoplasmas carecen de un sitio de acción para los fármacos antimicrobianos que inhiben la síntesis de la pared celular (p. ej., penicilinas y cefalosporinas) y por tanto son resistentes a tales fármacos. Algunos micoplasmas causantes de neumonía, como *Mycoplasma pneumoniae*, contienen esteroles en su membrana. La diferencia entre las formas L y los micoplasmas es que es posible la síntesis de mureína, por lo que las formas L pueden adquirir nuevamente su forma original de bacterias, lo que nunca ocurre con los micoplasmas.

Cápsula y glucocáliz

Muchas bacterias sintetizan grandes cantidades de polímeros extracelulares cuando crecen en sus ambientes naturales. Con

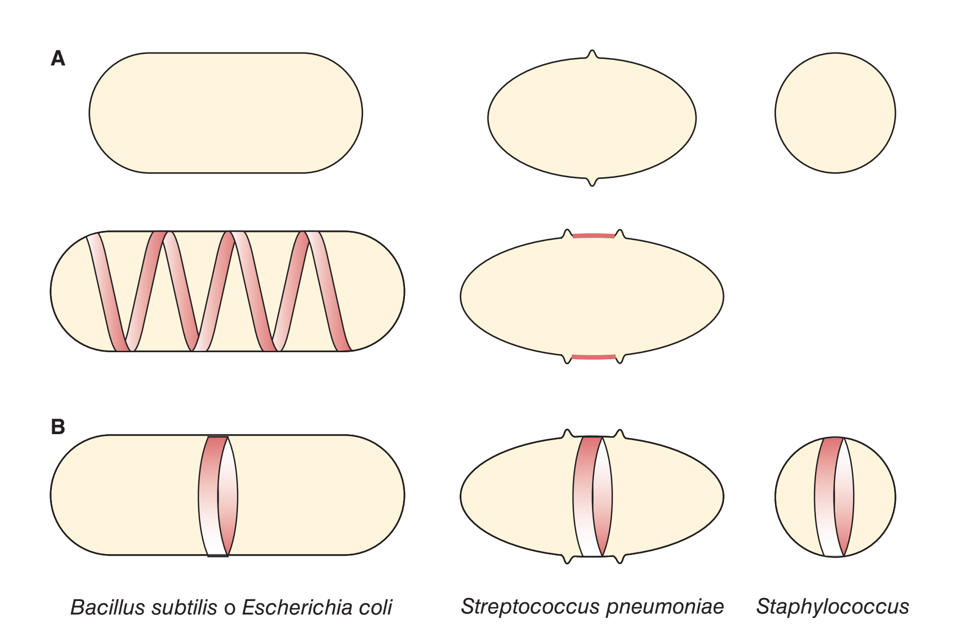


FIGURA 2-20 Incorporación de una nueva pared celular en bacterias de forma diferente. Las bacterias con forma de bacilo, como *Bacillus subtilis* o *Escherichia coli* tienen dos modos de síntesis de la pared celular: se introduce nuevo peptidoglucano en forma helicoidal (**A**), lo que da origen a la elongación de la pared lateral y se introduce en un anillo que se cierra alrededor del sitio de la futura división, lo que da origen a la formación del tabique de división (**B**). Los *Streptococcus pneumoniae* tienen forma oval y se elongan al insertar nuevo material en la pared celular de forma que se originan anillos ecuatoriales (**A**), que corresponden con la proliferación de la pared celular que rodea a la célula. El anillo inicial se duplica y los dos anillos resultantes se separan en forma progresiva, marcando el sitio de división futura de las células hijas. El tabique de división se sintetiza en la porción media de la célula (**B**). Las células redondas, como *Staphylococcus aureus*, no parecen tener un modo de elongación de la síntesis de la pared celular. En este caso se introduce nuevo peptidoglucano sólo en el tabique de división (**B**). (Reproducida con autorización de Scheffers DJ and Pinho MG: Microbiol Mol Biol Rev 2005;69:585.)

CUADRO 2-1 Composición química del polímero extracelular en bacterias selectas

Microorganismo	Polímero	Subunidades químicas
Bacillus anthracis	Polipéptido	Ácido D-glutámico
Enterobacter aerogenes	Polisacáridos complejos	Glucosa, fucosa, ácido glucurónico
Haemophilus influenzae	Serogrupo b	Ribosa, ribitol, fosfato
Neisseria meningitides	Homopolímeros y heteropolímeros, p. ej. ,	
	Serogrupo A	Parcialmente O-acetilado *N*-acetilmanosaminofosfato
	Serogrupo B	Ácido *N*-acetilmuramínico (ácido siálico)
	Serogrupo C	Ácido siálico acetilado
	Serogrupo 135	Galactosa, ácido siálico
Pseudomonas aeruginosa	Alginato	Ácido D-manurónico, ácido L- glucurónico
Streptococcus pneumoniae	Polisacáridos complejos (varios tipos), p. ej. ,	
(neumococo)	Tipo II	Ramnosa, glucosa, ácido glucurónico
	Tipo III	Glucosa, ácido glucurónico
	Tipo VI	Galactosa, glucosa, ramnosa
	Tipo XIV	Galactosa, glucosa, *N*-acetilglucosamina
	Tipo XVIII	Ramnosa, glucosa
Streptococcus pyogenes (grupo A)	Ácido hialurónico	*N*-acetilglucosamina, ácido glucurónico
Streptococcus salivarius	Levano	Fructosa

una excepción conocida (cápsulas de ácido poli-D-glutámico de *Bacillus anthracis* y *Bacillus licheniformis*), el material extracelular es un polisacárido (cuadro 2-1). Los términos **cápsula** y **capa mucilaginosa** con frecuencia se utilizan para describir capas de polisacáridos; también se utiliza el término más incluyente, **glucocáliz** que se define como el material que se encuentra fuera de la célula y que contiene polisacáridos. Una capa condensada, bien definida que rodea en forma estrecha a la célula y que excluye partículas, como la tinta china, se conoce como cápsula (fig. 2-21). Si el glucocáliz tiene una asociación laxa con la célula y no excluye partículas, se le denomina capa mucilaginosa. Los polímeros extracelulares son sintetizados en la superficie de la célula bacteriana. Por ejemplo, *Streptococcus mutans* utiliza dos enzimas (glucosiltransferasa y fructosiltransferasa) para la síntesis de dextranos de cadena larga (poli-D-glucosa) y levanos (poli-D-fructosa) a partir de sacarosa. Estos polímeros se denominan **homopolímeros**. Los polímeros que contienen más de un tipo de monosacáridos se denominan **heteropolímeros**.

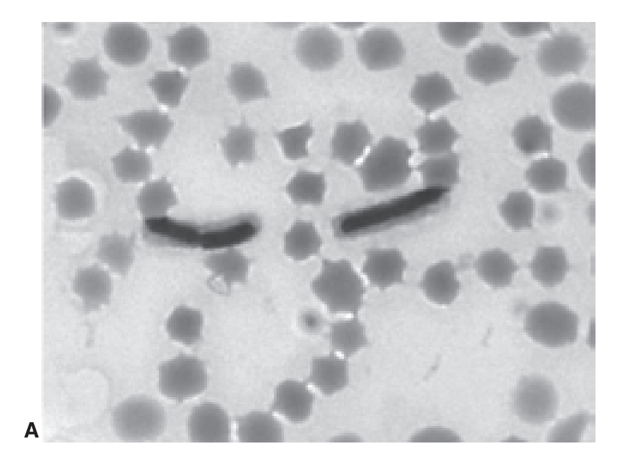
La cápsula contribuye a la capacidad de invasión de la bacteria patógena; las células encapsuladas están protegidas de la fagocitosis a menos que estén cubiertas con anticuerpos anticapsulares. El glucocáliz participa en la adherencia bacteriana a las superficies en su entorno, lo que incluye células hospedadoras vegetales y animales. Por ejemplo, *S. mutans* posee la capacidad para adherirse estrechamente al esmalte de los dientes por medio de su glucocáliz. Las células bacterianas de la misma o de diferentes especies permanecen atrapadas en el glucocáliz, donde forman una capa conocida como placa dental; los productos ácidos excretados por estas bacterias causan caries dental (cap. 11). La participación esencial del glucocáliz en este proceso y su formación a partir de sacarosa explican la correlación de la caries dental con el consumo de sacarosa en seres humanos. Como las capas de polisacáridos externas se unen a una cantidad significativa de agua, la capa de glucocáliz puede participar en la resistencia a la desecación.

Flagelos

A. Estructura

Los flagelos bacterianos son apéndices fusiformes compuestos en su totalidad por proteína, con un diámetro de 12 a 30 nm. Son órganos de locomoción para las estructuras que los poseen. Se conocen tres tipos de disposición: **monotrico** (flagelo polar único), **lofotrico** (múltiples flagelos polares) y **peritrico** (flagelos distribuidos sobre la totalidad de la célula). En la figura 2-22 se ilustran los tres tipos.

Un flagelo bacteriano está constituido por varios miles de moléculas de subunidades proteínicas denominadas **flagelina**. En unos cuantos microorganismos (p. ej., caulobacter) los flagelos están compuestos por dos tipos de flagelina, pero en la mayor parte de los casos sólo se encuentra un tipo. El flagelo se forma por la agregación de subunidades a una estructura de forma helicoidal. Si los flagelos se eliminan por agitación mecánica de una suspensión de bacterias, con rapidez se forman nuevos flagelos por la síntesis, agregación y extrusión de subunidades de flagelina; la motilidad se restablece en 3 a 6 min. La flagelina de



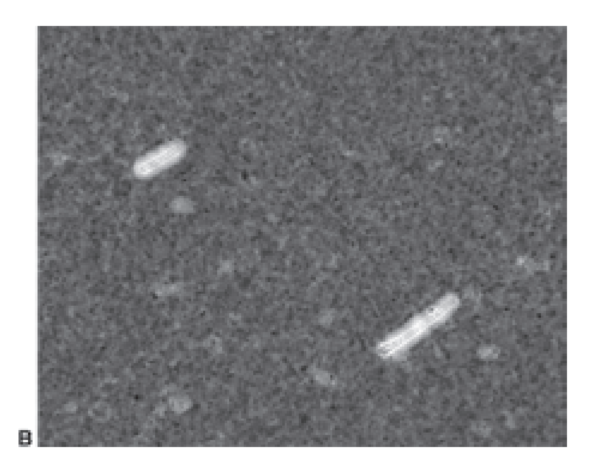


FIGURA 2-21 Cápsulas bacterianas. **A:** Tinción de la cápsula de *Bacillus anthracis* con la técnica de M'Faydean, cultivados a 35°C en sangre de caballo sin sibilina. **B:** Demostración de la presencia de cápsula en *Bacillus anthracis* por tinción negativa con tinta china. Este método es útil para mejorar la visualización de bacterias encapsuladas en muestras clínicas como sangre, medios de hemocultivo o líquido cefalorraquídeo. (CDC, cortesía de Larry Stauffer, Oregon State Public Health Laboratory.)

diferentes géneros bacterianos probablemente difiera de otra en cuanto a su estructura primaria. Son muy antigénicas (**antígeno H**) y algunas de las respuestas inmunitarias a la infección se dirigen contra estas proteínas.

Los flagelos se unen al cuerpo celular bacteriano por una estructura compleja formada por un gancho y un cuerpo basal. El gancho es una estructura curvada corta que parece actuar como articulación universal entre el motor en la estructura basal y el flagelo. Los cuerpos basales cuentan con un grupo de anillos, un par en las bacterias grampositivas y dos pares en las bacterias gramnegativas. En las figuras 2-23 y 2-24 se muestra una micrografía electrónica y diagramas de estas estructuras en bacterias gramnegativas; los anillos marcados con L y P están ausentes en las bacterias grampositivas. La complejidad del flagelo bacteriano se hace evidente por estudios genéticos, los cuales muestran que más de 40 productos génicos participan en el ensamble y función de tales estructuras.

Los flagelos se elaboran en forma escalonada (fig. 2-24). En primer lugar se ensambla el cuerpo basal y se inserta en la envoltura celular. A continuación se añade el gancho y por último el filamento se ensambla en forma progresiva por la adición de subunidades de flagelina a su punta de tamaño cada vez mayor. Las subunidades de flagelina son expulsadas a través de un conducto central hueco en el flagelo y cuando alcanzan la punta, se condensan con las moléculas predecesoras, lo que permite que el filamento se haga más largo.

B. Motilidad

Los flagelos bacterianos son rotores helicoidales semirrígidos que imparten movimiento de rotación a la célula; esta rotación funciona por el flujo de protones dentro de la misma, siguiendo el gradiente de concentración producido por una bomba de protones primaria (véase antes); en ausencia de una fuente de energía metabólica, puede funcionar por la fuerza de desplazamiento de protones generada por ionóforos. Las bacterias que viven en entornos alcalinos (alcalófilas) utilizan la energía del gradiente





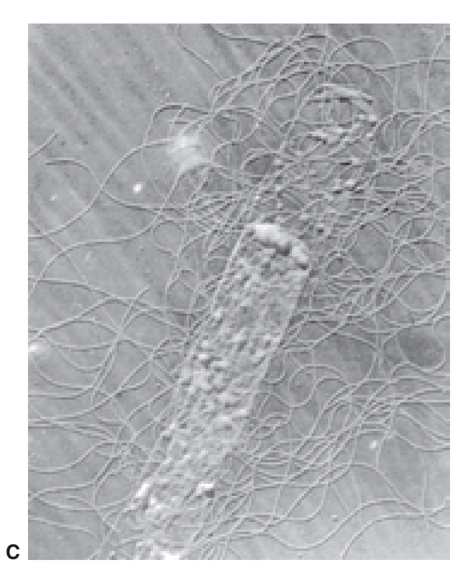


FIGURA 2-22 Flagelos bacterianos. **A:** *Vibrio metchnikovii*, una bacteria monotrica (7 500×). (Reproducida con autorización de van Iterson W: Biochim Biophys Acta 1947;1:527). **B:** Micrografía electrónica de *Spirillum serpens*, que muestra flagelos lofotricos (9 000×). (Reproducida con autorización de van Iterson W: Biochim Biophys Acta 1947;1:527). **C:** Micrografía electrónica de *Proteus vulgaris*, que muestra flagelos peritricos (9 000×). Obsérvense los gránulos basales. (Reproducida con autorización de Houwink A, van Iterson W: Biochim Biophys Acta 1950;5:10.)

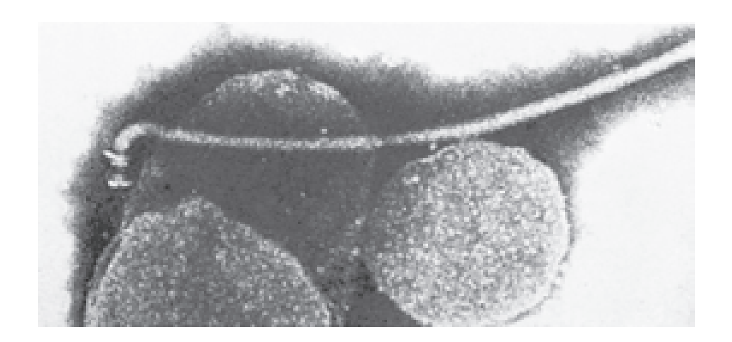


FIGURA 2-23 Micrografía electrónica de un lisado con tinción negativa de *Rhodospirillum molischianum* que muestra la estructura basal de un flagelo aislado. (Reproducida con autorización de Cohen-Bazire G, London L: Basal organelles of bacterial flagella. J Bacteriol 1967;94:458.)

del sodio (en lugar del gradiente de protones) para hacer funcionar el motor flagelar (fig. 2-25).

Todos los componentes del motor flagelar se ubican en la envoltura celular. Los flagelos unidos a una envoltura celular aislada y sellada rotan normalmente cuando el medio contiene un sustrato apropiado para la respiración o cuando se establece un gradiente de protones por medios artificiales.

Cuando una bacteria peritrica se desplaza, los flagelos se asocian para formar un mechón posterior que favorece el desplazamiento de la célula en línea recta mediante la rotación en sentido contrario a las manecillas del reloj. En intervalos los flagelos invierten su dirección de rotación y sufren una disociación transitoria, ocasionando que la célula dé volteretas hasta que de nuevo se restablece el desplazamiento, con dirección aleatoria. Esta conducta hace posible la propiedad de la **quimiotaxis**: una célula que se desplaza de la fuente de un compuesto químico atrayente sufre una voltereta y se reorienta más a menudo de lo que ocurriría si se desplazara hacia la sustancia que causa la atracción, lo que da origen a un desplazamiento neto de la célula hacia el sitio de origen de la sustancia atrayente. La presencia de un atrayente químico (como un carbohidrato o aminoácido) es percibido por receptores específicos ubicados en la membrana celular (en muchos casos el mismo receptor también participa en el transporte de membrana de dicha molécula). Las células bacterianas son demasiado pequeñas para detectar la existencia de un gradiente químico espacial (es decir, un gradiente entre dos polos); los experimentos muestran que detecta gradientes temporales, es decir, concentraciones que disminuyen con el paso del tiempo durante el cual la célula se aleja de la fuente de atracción y que se incrementa con el tiempo durante el cual la célula se desplaza hacia dicha fuente.

Algunos compuestos actúan como repelentes en lugar de atrayentes. Un mecanismo por el cual las células responden a la sustancias atrayentes y repelentes implica la metilación mediada por cGMP y la desmetilación de proteínas específicas en la membrana. Las sustancias atrayentes causan una inhibición transitoria de la desmetilación de estas proteínas, en tanto que los repelentes estimulan su desmetilación.

El mecanismo por el cual un cambio en la conducta celular ocurre en respuesta a un cambio en el entorno se denomina **transducción sensorial**; dicho fenómeno es causante de la quimiotaxis y de la **aerotaxis** (movimiento hacia la concentración óptima de oxígeno), **fototaxis** (movimiento de las bacterias fotosintéticas hacia las fuentes luminosas) y **taxis aceptora de electrones** (movimiento de las bacterias respiratorias hacia aceptores electrónicos alternativos, como nitrato y fumarato).

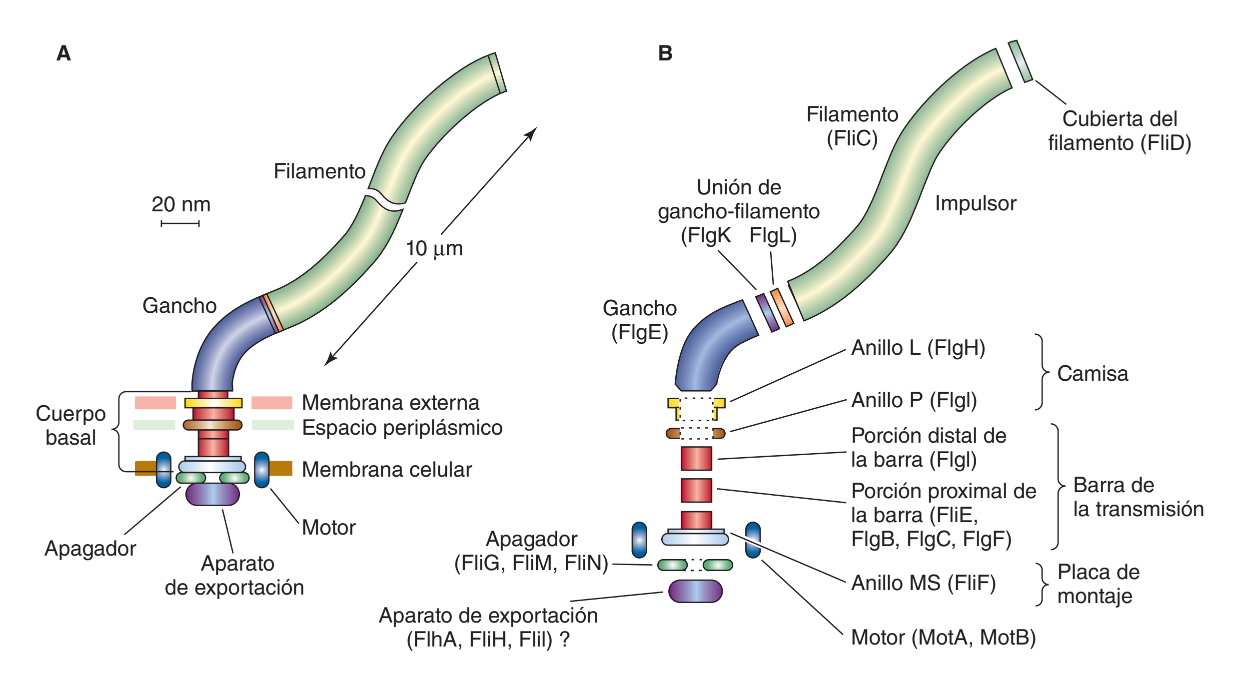


FIGURA 2-24 **A:** Estructura general del flagelo de una bacteria gramnegativa, como *Escherichia coli* o *Salmonella typhimurium*. El gancho filamentoso en el complejo corporal basal se ha aislado y se describe ampliamente. La ubicación del aparato de exportación no se muestra. **B:** Un diagrama del flagelo muestra la subestructura y proteínas a partir de las cuales se construye. La proteína FliF es responsable de la característica del anillo M, del anillo S y de la disposición en collar de las subestructuras que se muestran, que en conjunto se denominan anillo MS. Se desconoce la ubicación de FliE con respecto al anillo MS y con la barra (y el orden de las proteínas FlgB, FlgC y FlgF en la barra proximal). (Tomada de Macnab RM: Genetics and biogenesis of bacterial flagella. Annu Rev Genet 1992;26:131. Reproducida con autorización de *Annual Review of Genetics*, Volume 26, © 1992 by Annual Reviews.)

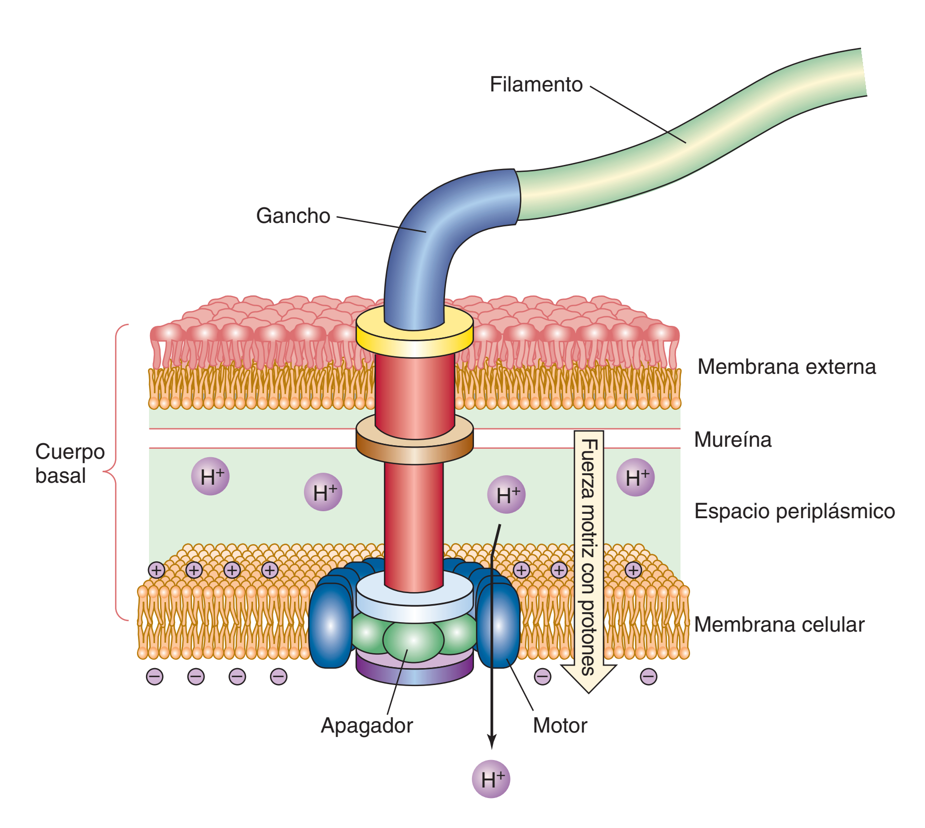


FIGURA 2-25 Componentes estructurales en el cuerpo basal del flagelo, lo que permite que la porción interna de la estructura, las barras y el cuerpo basal así como el complejo de gancho-filamento unidos presenten rotación. Los anillos externos permanecen estáticos en contacto con la membrana celular interna y externa y la pared celular (mureína), fijando el complejo del flagelo a la envoltura bacteriana. La rotación es estimulada por el flujo de protones a través del espacio periplásmico, fuera de la membrana celular, hacia el citoplasma en respuesta a un campo eléctrico y gradiente de protones a través de la membrana, que en conjunto constituyen la fuerza motriz de protones. Un apagador determina la dirección de la rotación, lo que a su vez determina si la bacteria se desplaza en sentido anterógrado (por rotación en sentido contrario a las manecillas del reloj) o presenta movimiento irregular (por rotación en el sentido de las manecillas del reloj de los flagelos). (Reproducida con autorización de Saier MH Jr: Peter Mitchell and his chemiosmotic theories. ASM News 1997;63:13.)

En estas respuestas, al igual que la quimiotaxis, el desplazamiento neto depende de la regulación de la respuesta a las volteretas.

Pilosidades (fimbrias)

Muchas bacterias gramnegativas poseen apéndices superficiales rígidos denominados **pilosidades** (“pelos L”) o **fimbrias** (“flecos L”). Son más cortos y más finos que los flagelos y al igual que éstos, se componen por subunidades proteínicas estructurales denominadas **pilinas**. Algunas pilosidades contienen un tipo único de pilina en tanto que otras tienen más de una. Las proteínas menores denominadas **adhesinas** se ubican en la punta de las pilosidades y participan en sus propiedades de unión. Pueden distinguirse dos clases: pilosidades ordinarias, que participan en la adherencia de bacterias sintéticas y patógenas con las células del hospedador y pilosidades sexuales, que participará en el mecanismo de unión de células donadas y receptoras para la conjugación bacteriana (cap. 7). En la figura 2-26 se ilustran las pilosidades en las cuales la pilosidad sexual ha sido cubierta por una partícula fagocítica para la cual cuentan con receptores específicos.

La motilidad a través de pilosidades es completamente diferente del movimiento flagelar. Las moléculas de pilina muestran disposición helicoidal para formar un cilindro recto que no rota y que carece de un cuerpo basal completo. Su punta se adhiere fuertemente a superficies distantes a la célula. Más tarde, las pilosidades sufren despolimerización desde el extremo interno y de esta forma sufren retracción al interior de la célula. El resultado es que la bacteria se mueve en la dirección en que se adhiere la punta. Este tipo de movimiento superficial se denomina **fasciculaciones** y se observa a menudo en bacterias con pilosidades. A diferencia de los flagelos, las pilosidades crecen desde el interior de la célula hacia el exterior.

La virulencia de ciertas bacterias patógenas depende de la producción de toxinas y también de “antígenos de colonización”, los cuales son pilosidades ordinarias que proporcionan a las células propiedades de adherencia. En cepas de *E. coli* enteropatógena, las enterotoxinas y los antígenos de colonización (pilosidades) tienen determinación genética a través de plásmidos transmisibles, como se menciona en el capítulo 7.

En los estreptococos que son un grupo de cocos grampositivos, las fimbrias son el sitio principal para la ubicación del antígeno de superficie, la proteína M. El ácido lipoteicoico relacionado con estas fimbrias es causante de la adherencia de los estreptococos del grupo A a las células epiteliales del hospedador.

Las pilosidades de diferentes bacterias son distintas desde el punto de vista antigénico y desencadenan la formación de anticuerpos por el hospedador. Los anticuerpos contra las pilosidades de una especie bacteriana no evitan la unión de otra



FIGURA 2-26 Apéndices superficiales de la bacteria. Micrografía electrónica de una *Escherichia coli* que posee tres tipos de apéndices: pilosidades ordinarias (cortas, rectas), una pilosidad sexual (más larga y flexible con partículas de fagocitos unidas) y varios flagelos (más largos, gruesos). Diámetros: pilosidades ordinarias, 7 nm; pilosidad sexual, 8.5 nm; flagelos, 25 nm. (Cortesía de J. Carnahan y C. Brinton.)

especie. Algunas bacterias (cap. 21), como *N. gonorrhoeae* son capaces de producir pilosidades con diferentes tipos antigénicos (**variación antigénica**) y por tanto pueden adherirse a las células aun en presencia de anticuerpos contra su velocidad original. Al igual que las cápsulas, las pilosidades inhiben la capacidad fagocítica de los leucocitos.

Endosporas

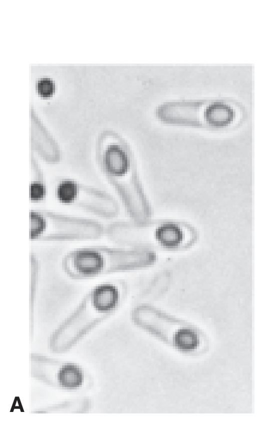
Miembros de varios géneros bacterianos son capaces de formar endosporas (fig. 2-27). Las dos más comunes son bacilos grampositivos: los anaerobios obligados del género *Bacillus* y los anaerobios obligados del género *Clostridium*. Otras bacterias que se sabe forman endosporas son *Thermoactinomyces, Sporolactobacillus, Sporosarcina, Sporotomaculum, Sporomusa* y *Sporohalobacter*. Dichos microorganismos sufren un ciclo de diferenciación en respuesta a condiciones ambientales: el proceso, denominado **esporulación**, es desencadenado por el casi agotamiento de varios nutrientes (carbono, nitrógeno o fósforo). Cada célula forma una espora interna única que es liberada cuando la célula madre sufre autólisis. La espora es una célula en reposo, muy resistente a la desecación, al calor y a los compuestos químicos; cuando se encuentra en condiciones nutricionales favorables y se activa (véase adelante) la espora **germina** para producir una célula vegetativa.

A. Esporulación

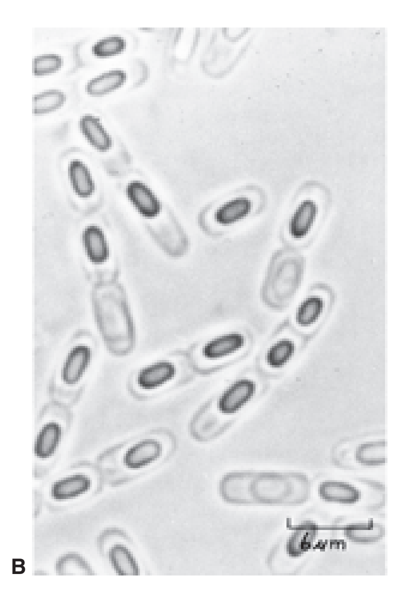
El proceso de esporulación inicia cuando las condiciones nutricionales se tornan poco favorables, hay casi agotamiento de las fuentes de nitrógeno o de carbono (o ambas), lo que constituye los factores más significativos. La esporulación ocurre masivamente en cultivos que han terminado su crecimiento exponencial como consecuencia del casi agotamiento de los nutrientes.

La esporulación implica la producción de muchas estructuras, enzimas y metabolitos nuevos junto con la desaparición de varios componentes de la célula vegetativa. Estos cambios representan un verdadero proceso de **diferenciación**: se activan una serie de genes cuyos productos determinan la formación y composición final de la espora. Tales cambios implican alteraciones en la especificidad transcripcional de la polimerasa de RNA, que depende de la asociación de la proteína central de polimerasa con una u otra proteína promotora específica denominada **factor sigma**. Durante el crecimiento vegetativo, predomina un factor sigma designado como σ^A. Más tarde, durante la esporulación se forman otros cinco factores sigma que causan la expresión de varios genes de la espora a diferentes tiempos en ubicaciones específicas.

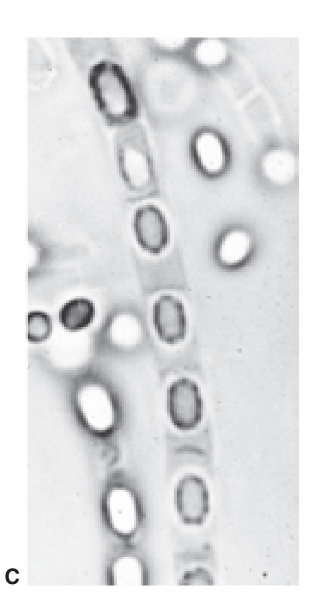
La secuencia de eventos en la esporulación es sumamente compleja: la diferenciación de una célula vegetativa de *B. subtilis* en una endospora tarda casi 7 h en condiciones de laboratorio. Diferentes eventos clínicos y morfológicos ocurren en etapas



A



B



C

FIGURA 2-27 Células en esporulación del género bacilos. **A:** Bacilos no identificados provenientes del suelo. **B:** *Bacillus cereus*. **C:** *Bacillus megaterium*. (Reproducida con autorización de Robinow CF, en: Structure. Vol 1 of: *The Bacteria: A Treatise on Structure and Function*. Gunsalus IC, Stanier RY [editors]. Academic Press, 1960.)

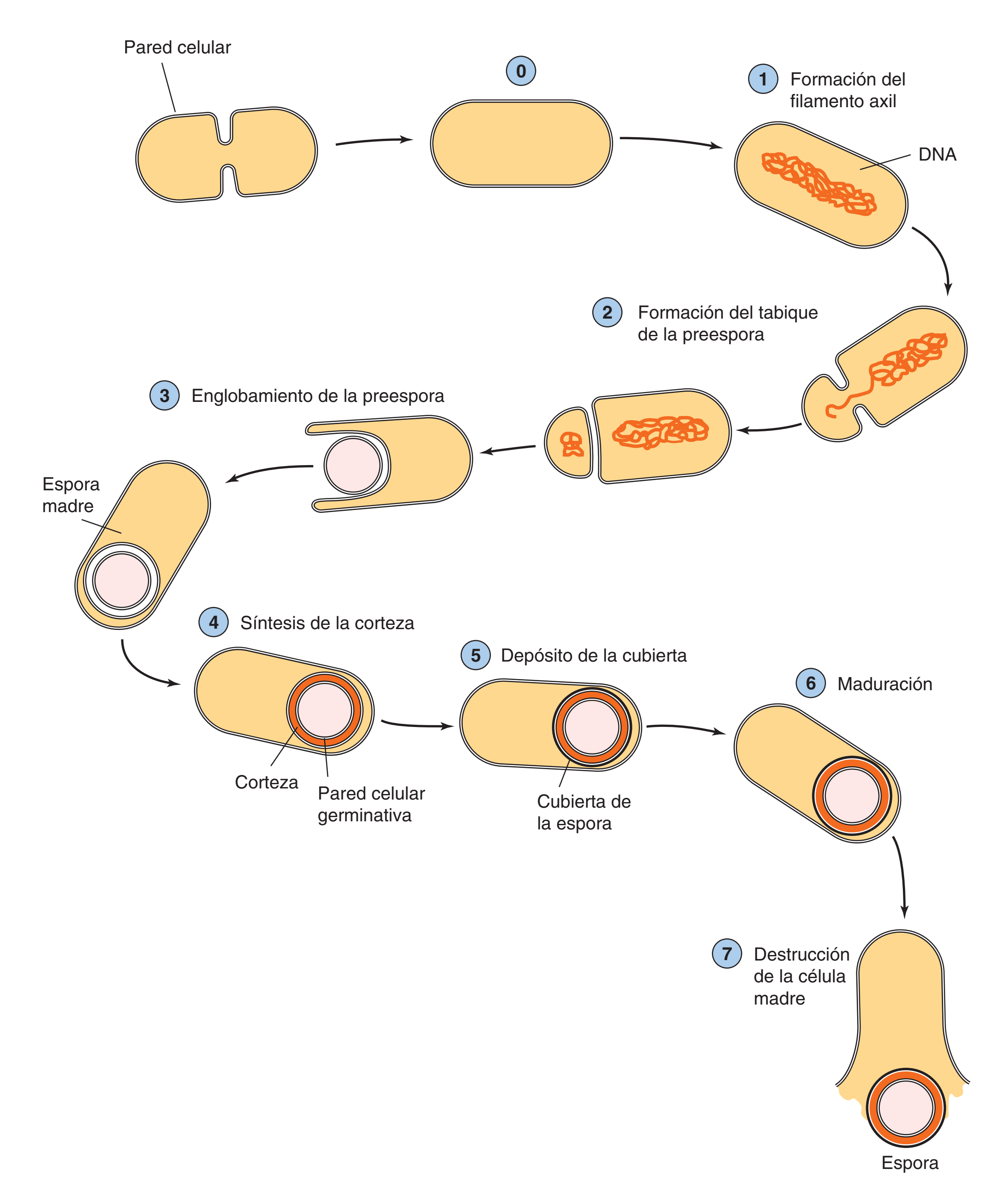


FIGURA 2-28 Etapas de la formación de endosporas. (Reproducida con autorización de Merrick MJ: Streptomyces. En: Developmental Biology of Procaryotes. Parish JH [editor]. Univ California Press, 1979.)

secuenciales del proceso. Se han identificado siete etapas diferentes.

Desde el punto de vista morfológico, la esporulación inicia con la formación de un filamento axil (fig. 2-28). El proceso continúa con el plegamiento de la membrana de forma que se produce una doble membrana cuyas superficies corresponden a la superficie de síntesis de la pared celular de la envoltura celular. Los puntos de crecimiento se desplazan de manera progresiva hacia el polo de la célula de forma que pueda englobar la espora en formación.

Las dos membranas de la espora inician la síntesis activa de capas especiales que formarán la envoltura celular: la **pared de la espora** y la **corteza** que se encuentran fuera de las membranas en aposición. En el nuevo citoplasma aislado muchas enzimas de la célula vegetativa sufren degradación y son sustituidas por un grupo de constituyentes singulares para la espora.

B. Propiedades de las endosporas

1. Región central. La región central es el protoplasto de la espora. Contiene un núcleo completo (cromosomas), todos los componentes del aparato de síntesis de proteínas y el sistema productor de energía que depende de la glucólisis. Se carece de citocromos incluso en especies aerobias y por tanto las esporas dependen de una vía de transporte de electrones acortada que incluye flavoproteínas. Varias enzimas de células vegetativas se

incrementan en cantidad (p. ej., alanina racemasa) y se forman varias enzimas singulares (p. ej., sintetasa de ácido dipicolínico). Las esporas no contienen nucleótidos de piridinas reducidos o ATP. La energía para la germinación se almacena en forma de 3-fosfoglicerato en lugar de almacenarse como ATP.

La resistencia al calor de las esporas se debe en parte a su estado de deshidratación y en parte la presencia de grandes cantidades de **dipicolinato cálcico** en la región central (5 a 15% del peso seco de la espora) que se forma a partir de un intermediario de la vía biosintética de glicina (fig. 6-18). En alguna forma que aún no se comprende por completo, estas propiedades causan la estabilización de las enzimas de la espora, la mayor parte de las cuales muestran labilidad normal al calor cuando se aíslan en forma soluble.

2. Pared de la espora. La capa más interna que rodea la membrana interna de la espora se denomina pared de la espora. Contiene peptidoglucano normal y se convierte en la pared celular de la célula vegetativa en germinación.

3. Corteza. Es la capa más gruesa de la envoltura de la espora. Contiene un tipo inusual de peptidoglucano, con muchos menos enlaces cruzados de los que se encuentran en el peptidoglucano de la pared celular. El peptidoglucano de la corteza es extremadamente sensible a las lisozimas y su autólisis participa en la germinación de la espora.

4. Cubierta. La cubierta se compone por proteínas similares a la queratina que contienen muchos enlaces disulfuro intramoleculares. La impermeabilidad de esta capa confiere a las esporas su relativa resistencia a los agentes químicos antibacterianos.

5. Exosporio. El exosporio está compuesto por proteínas, lípidos y carbohidratos. Consiste de una capa basal paracristalina y una región externa con aspecto piloso. La función del exosporio es poco clara. Las esporas de algunos microorganismos del género *Bacillus* (p. ej., *B. anthracis* y *B. cereus*) poseen un exosporio, en tanto que microorganismos de otros géneros (p. ej., *B. atrophaeus*) poseen esporas que carecen de esta estructura.

C. Germinación

El proceso de germinación ocurre en tres etapas: activación, inicio y retoño.

1. Activación. La mayor parte de las endosporas no pueden germinar de inmediato después de su formación. Pueden germinar después de que han permanecido en reposo por varios días o cuando se activan por primera vez en un medio rico en nutrientes por uno u otro agente que daña la cubierta de la espora. Entre los agentes que pueden activar a una espora en reposo se encuentran el calor, abrasión, acidez y compuestos que contienen grupos sulfhidrilo libres.

2. Inicio. Una vez activada, una espora iniciará la germinación si las condiciones ambientales son favorables. En diferentes especies han evolucionado receptores que reconocen diferentes efectores como sistema de señalización en un entorno rico en nutrientes: así la etapa de inicio es desencadenada por L-alanina en una especie y por adenosina en otra. La unión del efector activa una autolisina que degrada con rapidez la corteza de peptidoglucano. Se capta agua, se libera el dipicolinato cálcico y diversos constituyentes de la espora sufren degradación por enzimas hidrolíticas.

3. Proliferación. La degradación de la corteza y de las capas externas da origen al surgimiento de una nueva célula vegetativa que consiste de protoplastos de espora con su pared circundante. Se continúa con un periodo de biosíntesis activa que concluye con la división celular, y se conoce como etapa de proliferación; para que se lleve a cabo ésta es necesario el suministro de todos los nutrientes esenciales para el crecimiento celular.

TINCIÓN

Los colorantes sufren combinación química con el protoplasma de la bacteria; si la célula no está muerta, el proceso de tinción la destruye; por tanto, tal proceso es drástico y puede producir artefactos.

Los colorantes utilizados a menudo son sales. Los **colorantes básicos** consisten de cationes teñidos con un anión incoloro (p. ej., cloruro$^-$ de azul de metileno$^+$); ocurre lo contrario con los **colorantes ácidos** (p. ej., eosinato$^-$ de sodio$^+$). Las células bacterianas son ricas en ácidos nucleicos y portan cargas negativas en los grupos fosfato. Ésta se combina con las cargas positivas de los colorantes básicos. Los colorantes ácidos no tiñen a las células bacterianas y por tanto pueden utilizarse para teñir el material de fondo a fin de proporcionar un contraste de color (véase la sección Tinción negativa, adelante).

Los colorantes básicos tiñen las células bacterianas de manera uniforme a menos que en primer lugar se destruya el RNA citoplásmico. Sin embargo, pueden utilizarse técnicas de tinción especial para diferenciar los flagelos, cápsulas, paredes celulares, membranas celulares, gránulos, nucleoides y esporas.

Tinción de Gram

Una característica taxonómica importante de las bacterias es su respuesta a la tinción de Gram. Las propiedades de tinción de Gram parecen ser fundamentales, porque la reacción de Gram se correlaciona con muchas otras propiedades morfológicas en formas con relación filogenética (cap. 3). Un microorganismo que en potencia es positivo para la tinción de Gram puede parecerlo sólo bajo condiciones ambientales particulares y en un cultivo joven.

Los procedimientos de tinción de Gram (véase el capítulo 47 para detalles) inician con la aplicación de un colorante básico, violeta de genciana. A continuación se aplica una solución de yodo; todas las bacterias se tiñen de color azul en este punto del procedimiento. Luego la célula se trata con alcohol. Las células grampositivas que conservan el complejo de violeta de genciana-yodo adquieren un color azul y las células gramnegativas se decoloran por completo con la adición de alcohol. Como último paso se aplica otro colorante (como rojo de safranina) de forma que las células gramnegativas decoloradas adquieran un color contrastante; las células grampositivas adquieren un color violáceo.

La base de la reacción diferencial a la tinción de Gram es la estructura de la pared celular, como se comentó antes en este capítulo.

Tinción acidorresistente

Las bacterias acidorresistentes son aquellas que conservan la carbolfucsina (tiroxina básica disuelta en una mezcla de agua-alcohol-fenol) incluso cuando se decolora con ácido clorhídrico en alcohol. Un frotis de células sobre una laminilla se cubre con carbolfucsina y se calienta en baño María. A continuación se lleva a cabo la decoloración con la mezcla de ácido-alcohol y por último se aplica una tinción de contraste (azul o verde) (cap. 47). Las bacterias acidorresistentes (micobacterias y algunos actinomicetos relacionados) adquieren un color rojizo en tanto que otras células adquieren el color del segundo colorante.

Tinción negativa

Este procedimiento consiste en la atención del entorno con un colorante ácido, dejando a las células incoloras. El colorante negro de nigrosina (tinta china) se utiliza a menudo. Dicho método se emplea para aquellas células o estructuras difíciles de teñir en forma directa (fig. 2-21B).

Tinción de los flagelos

Los flagelos son demasiado delgados (12 a 30 nm de diámetro) para que sean visibles en el microscopio de luz. Sin embargo, su presencia y distribución pueden demostrarse al tratar las células con una suspensión coloidal inestable de sales de ácido tánico, lo que causa la precipitación intensa sobre las paredes celulares y flagelos. De esta manera, el diámetro aparente de éstos se incrementa a un tamaño tal que las tinciones subsiguientes con fucsina básica hacen visibles a los flagelos en la microscopia de luz. En la figura 2-29 se muestran células teñidas con este método.

En las bacterias peritricas los flagelos forman haces durante el movimiento y tales haces pueden tener un grosor tal que sea posible observarlos en células vivas en la microscopia de campo oscuro o de contraste de fases.

Tinción de la cápsula

La presencia de la cápsula por lo común se demuestra por procedimientos de tinción negativa o modificaciones de tales procedimientos (fig. 2-21). Uno de estos métodos de "tinción de la cápsula" (método de Welch) implica el tratamiento con solución de violeta de genciana caliente seguido de un lavado con solución de sulfato de cobre. Este último se utiliza para eliminar el exceso de colorante porque las técnicas convencionales de lavado con agua causarían la disolución de la cápsula. Las sales de cobre también proporcionan color al fondo, con el resultado de que la célula y el fondo adquieren un color azul oscuro y la cápsula tiene un color azul mucho más pálido.

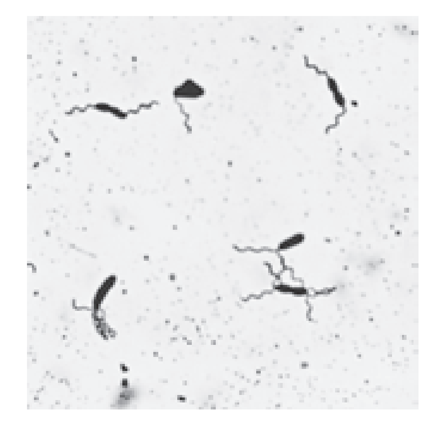


FIGURA 2-29 Tinción de los flagelos de bacterias del género *Pseudomonas*. (Reproducida con autorización de Leifson E: J Bacteriol 1951;62:377.)

Tinción de nucleótidos

Los nucleótidos se pueden teñir con la tinción de Feulgen, un método específico para el DNA (fig. 2-4).

Tinción de esporas

Las esporas se observan de la manera más simple como cuerpos refringentes intracelulares en suspensiones celulares no teñidas o como áreas incoloras en células teñidas por métodos convencionales (fig. 2-27). La pared de la espora es relativamente impermeable, pero puede lograrse que el colorante penetre la espora mediante el calentamiento de la preparación. La misma impermeabilidad que sirve para evitar la decoloración de la espora después de un tratamiento con alcohol es suficiente para decolorar células vegetales. Más tarde puede aplicarse un segundo colorante. Las esporas a menudo se tiñen con verde de malaquita o carbolfucsina.

CAMBIOS MORFOLÓGICOS DURANTE LA PROLIFERACIÓN

División celular

La mayor parte de las bacterias se dividen por **fisión binaria** en dos células hijas iguales. En un medio de cultivo de bacilos, como *E. coli*, las células sufren elongación y más tarde forman una partición que finalmente se separa en dos células hijas. La partición se conoce como **tabique** y es consecuencia del crecimiento hacia el interior de la membrana citoplásmica y la pared celular a partir de direcciones opuestas hasta que se separan dos células hijas. Los cromosomas se duplican en número antes de la división y se distribuyen en cantidades iguales a las dos células hijas.

Las bacterias carecen de huso mitótico pero el tabique se forma de manera tal que separa los cromosomas de las dos células hijas, que previamente se formaron por replicación cromosómica. Esto se logra mediante la unión de los cromosomas a la membrana celular. Con base en un modelo, la finalización de un ciclo de replicación de DNA desencadena la síntesis activa de la membrana en los sitios de unión de los dos cromosomas hijos. Los cromosomas se separan por el crecimiento del tabique hacia el interior, procedimiento en el cual cada célula hija permanece con una copia.

Agrupamiento celular

Si las células permanecen transitoriamente unidas durante la división, se originan ciertas agrupaciones características. Dependiendo del plano de división y el número de divisiones a través

del cual las células permanecen unidas, pueden presentarse las siguientes formas durante la replicación de cocos: cadenas (estreptococos), pares (diplococos), haces cúbicos (sarcinas) o placas planas. Los bacilos pueden formar pares o cadenas.

Después de la fisión de algunas bacterias, ocurren movimientos característicos luego de la división. Por ejemplo, un "movimiento de latigazo" puede colocar las células en posiciones paralelas; las divisiones repetidas y los movimientos de latigazo que ocurren en forma repetida dan origen a una disposición en "palizada" que es característica de los bacilos diftéricos.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un varón de 22 años de edad acude a consulta con una úlcera indolora de 1 cm de diámetro en la base del pene. Presenta linfadenopatía inguinal. El paciente informa que ha pagado por relaciones sexuales y drogas y tiene varias parejas sexuales. Una prueba de RPR fue positiva y se sospecha sífilis; sin embargo, la tinción de Gram de un frotis obtenido con hisopo de la úlcera muestra ausencia de bacterias. El *Treponema pallidum* es el agente causal de la sífilis pero no puede visualizarse en la microscopia de luz porque
   (A) Es transparente
   (B) No puede teñirse con los colorantes ordinarios
   (C) Tiene un diámetro <0.2 μm
   (D) La longitud de onda de la luz blanca es demasiado grande
   (E) El movimiento rápido del microorganismo evita su visualización
2. El cloranfenicol es un antibiótico que inhibe la síntesis de proteínas bacterianas. ¿Qué organelos de células eucariotas también se afectan?
   (A) Mitocondria
   (B) Aparato de Golgi
   (C) Microtúbulos
   (D) Retículo endoplásmico
   (E) Membrana nuclear
3. ¿Cuál de las siguientes estructuras no es parte de la envoltura de la célula bacteriana?
   (A) Peptidoglucano
   (B) Lipopolisacárido
   (C) Cápsula
   (D) Vacuola de gas
   (E) Capa S
4. ¿Cuál de los siguientes mecanismos de transporte funciona sin la necesidad de energía?
   (A) Unión dependiente de proteínas
   (B) Translocación del grupo
   (C) Transporte paralelo
   (D) Transporte simple
   (E) Difusión facilitada
5. ¿Cuál de los siguientes componentes está presente en bacterias grampositivas, pero no en gramnegativas?
   (A) Peptidoglucano
   (B) Lípido A
   (C) Cápsula
   (D) Flagelos
   (E) Pilosidades
6. ¿Cuál de los siguientes componentes está presente en bacterias grampositivas pero no en gramnegativas?
   (A) Peptidoglucano
   (B) Cápsula
   (C) Flagelos
   (D) Ácido teicoico
   (E) Ácido diaminopimélico
7. En el otoño de 2001, varias cartas que contenían esporas de *Bacillus anthracis* fueron enviadas por correo a personas de los medios de comunicación y oficinas del senado estadounidense. Esto ocasionó 22 casos de carbunco con cinco defunciones. La resistencia al calor de esporas bacterianas, como las de *Bacillus anthracis* se deben en parte a su estado de deshidratación y en parte a la presencia de grandes cantidades de
   (A) Ácido diaminopimélico
   (B) Ácido D-glutámico
   (C) Dipicolinato de calcio
   (D) Proteínas que contienen grupos sulfhidrilo
   (E) Lípido A

Respuestas

1. C	3. D	5. B	7. C
2. A	4. E	6. D	

BIBLIOGRAFÍA

Balows A et al (editors): *The Prokaryotes, A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications,* 2nd ed, 4 vols. Springer, 1992.

Barreteau H, Kovac A, Boniface A, Sova M, Gobec S, Blanot D: Cytoplasmic steps of peptidoglycan biosynthesis. FEMS Microbiol Rev 2008;32:168.

Barton LL: *Structural and Functional Relationships in Prokaryotes.* Springer, 2005.

Bermudes D, Hinkle G, Margulis L: Do prokaryotes contain microtubules? Microbiol Rev 1994;58:387. [PMID: 7968920]

Blair DF: How bacteria sense and swim. Annu Rev Microbiol 1995;49:489. [PMID: 8561469]

Craig L, Pique ME, Tainer JA: Type IV pilus structure and bacterial pathogenicity. Nature Rev Microbiol 2004;2:363.

Dautin N, Bernstein HD: Protein secretion in gram-negative bacteria via the autotransporter pathway. Annu Rev Microbiol 2007;61:89.

Drlica K, Riley M (editors): *The Bacterial Chromosome.* American Society for Microbiology, 1990.

Economou A, Christie PJ, Fernandez RC, Palmer T, Plano GV, Pugsley AP: Secretion by the numbers: Protein traffic in prokaryotes. Mol Microbiol 2006;62:308.

Henriques AO, Moran CP Jr: Structure, assembly, and function of the spore surface layers. Annu Rev Microbiol 2007;61:555.

Hinnebusch J, Tilly K: Linear plasmids and chromosomes in bacteria. Mol Microbiol 1993;10:917. [PMID: 7934868]

Hueck CJ: Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. Microbiol Mol Biol Rev 1998;62:379. [PMID: 9618447]

Leiman PG et al: Type VI secretion apparatus and phage tail-associated protein complexes share a common evolutionary origin. Proc Natl Acad Sci USA 2009;106:4154.

Liu J, Barry CE III, Besra GS, Nikaido H: Mycolic acid structure determines the fluidity of the mycobacterial cell wall. J Biol Chem 1996;271:29545.

Messner P et al: III. Biochemistry of S-layers. FEMS Microbiol Rev 1997;20:25. [PMID: 9276927]

Moat AG, Foster JW: *Microbial Physiology*, 3rd ed. Wiley-Liss, 1995.

Naroninga N: Morphogenesis of *Escherichia coli*. Microbiol Mol Biol Rev 1998;62:110.

Neuhaus FC, Baddiley J: A continuum of anionic charge: Structures and functions of D-alanyl-teichoic acids in grampositive bacteria. Microbiol Mol Biol Rev 2003;67:686.
Nikaido H: Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. Microbiol Mol Biol Rev 2003;67:593.
Rachel R et al: Fine structure of S-layers. FEMS Microbiol Rev 1997;20:13.
Sauvage E, Kerff F, Terrak M, Ayala JA, Charlier P: The penicillin-binding proteins: Structure and role in peptidoglycan biosynthesis. FEMS Microbiol Rev 2008;32:234.
Schaechter M, Ingraham JL, Neidhardt FC: *Microbe*. American Society for Microbiology, 2006.
Scheffers DJ, Pinho MG: Bacterial cell wall synthesis: New insights from localization studies. Microbiol Mol Biol Rev 2005;69:585.
Schirmer T: General and specific porins from bacterial outer membranes. J Struct Biol 1998;121:101. [PMID: 9615433]
Scott JR, Barnett TC: Surface proteins of gram-positive bacteria and how they get there. Annu Rev Microbiol 2006;60:397.
Sonenshein AL, Hoch JA, Losick R: Bacillus subtilis *and Its Closest Relatives*. American Society for Microbiology, 2002.
Vaara M: Agents that increase the permeability of the outer membrane. Microbiol Rev 1992;56:395. [PMID: 1406489]
Vollmer W, Blanot D, de Pedro MA: Peptidoglycan structure and architecture. FEMS Microbiol Rev 2008;32:149.
Walsby AE: Gas vesicles. Microbiol Rev 1994;58:94. [PMID: 8177173]
Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE: Mechanisms of adhesion by oral bacteria. Annu Rev Microbiol 1996;50:513. [PMID: 8905090]



CAPÍTULO 3

Clasificación de las bacterias

TAXONOMÍA: EL VOCABULARIO DE LA MICROBIOLOGÍA MÉDICA

Con sólo examinar el índice de contenido de este libro, se aprecia la diversidad de organismos patógenos médicos que causan enfermedades infecciosas. Se calcula que en la actualidad es posible identificar menos de 10% de los microorganismos patógenos que provocan enfermedades por la imposibilidad de cultivar o analizar estos organismos con sondas moleculares. No obstante, incluso la diversidad de estos organismos patógenos identificables es tal que es importante conocer las diferencias sutiles vinculadas con cada uno de ellos. La razón por la que es importante conocer estas sutilezas es que cada uno de estos organismos infecciosos se ha adaptado de manera específica a un modo de transmisión, un mecanismo para infectar al hospedador humano (colonización) y un mecanismo para causar enfermedad (patología). Por lo tanto, es indispensable contar con un vocabulario que permita comunicar las características singulares de los organismos infecciosos a los estudiantes, microbiólogos, y al personal dedicado a la salud con la finalidad de evitar el caos que sobrevendría sin las limitaciones de organización propias de la **taxonomía** bacteriana (del griego *taxon* = organización; esto es, la clasificación de los organismos en un sistema ordenado que indica una relación natural).

La **clasificación**, **nomenclatura** e **identificación** constituyen tres áreas distintas pero interrelacionadas de la taxonomía bacteriana. La **clasificación** se basa en catalogar a los organismos dentro de grupos taxonómicos. Para la clasificación de las bacterias se necesitan técnicas tanto experimentales como de observación; la razón es que a menudo se requieren las propiedades bioquímicas, fisiológicas, genéticas y morfológicas para describir correctamente a un taxón. La **nomenclatura** se refiere al nombre asignado a un organismo según las reglas internacionales (establecidas por un grupo reconocido de profesionales médicos) según sus características. El término **identificación** se refiere a la aplicación práctica de un esquema de clasificación para: 1) aislar y distinguir a los organismos convenientes de los perjudiciales; 2) verificar la autenticidad o propiedades especiales de un cultivo en un contexto clínico, y 3) aislar e identificar al organismo causal de una enfermedad. Esta última acarrea la selección de tratamientos farmacológicos específicos destinados a su erradicación (cap. 28), una vacuna que atenúe su capacidad patológica o alguna medida de salud pública (p. ej., lavarse las manos o usar condón) para prevenir su transmisión.

Los esquemas de identificación no constituyen esquemas de clasificación, aunque en ocasiones tienen cierta similitud superficial. El esquema de identificación de un grupo de organismos sólo se puede diseñar una vez que el grupo ha sido clasificado, esto es, se reconoce que difiere de los demás organismos. Por ejemplo, en la literatura popular se ha dicho que *Escherichia coli* es la causa del síndrome urémico hemolítico (HUS, *hemolytic uremic syndrome*) en los lactantes. Existen cientos de cepas clasificadas como *E. coli*, pero sólo unas cuantas causan HUS. Estas cepas se distinguen de las demás por medio de la reacción de los anticuerpos hacia sus antígenos O y H, como se describe en el capítulo 2 (p. ej., *E. coli* O157:H7). La taxonomía, y la nomenclatura que la acompaña, es una ciencia poco precisa que se está perfeccionando; el vocabulario de la microbiología médica evoluciona igual que el vocabulario de nuestra sociedad. Cualquier profesional relacionado con las enfermedades infecciosas debe conocer la taxonomía evolutiva de los microorganismos infecciosos.

Las categorías taxonómicas forman la base para organizar a las bacterias. La taxonomía linneana o de Linneo es el sistema que mejor conocen los biólogos. Utiliza las categorías taxonómicas formales (en orden) reino, tipo, clase, orden, familia, género y especie. Las categorías inferiores son aprobadas por un consenso de expertos en la comunidad científica (cuadro 3-1). De estas categorías, la familia, género y especie son las más útiles.

CUADRO 3-1 Categorías taxonómicas

Categoría formal	Ejemplo
Reino	Procariotas
División	Gracilicutes
Clase	Escotobacteria
Orden	Eubacterias
Familia	Enterobacteriaceae
Género	*Escherichia*
Especie	*coli*
Subtipo	*Escherichia coli* O157:H7

CRITERIOS PARA CLASIFICAR A LAS BACTERIAS

Crecimiento en medios de cultivo

Los criterios adecuados para fines de clasificación bacteriana incluyen muchas de las propiedades que se describieron en el capítulo anterior. Una de ellas es el crecimiento en un medio bacteriológico. A diferencia de los virus y parásitos, muchas bacterias patógenas se pueden aislar en un medio que contiene agar sólido. El cultivo general de la mayor parte de las bacterias requiere un medio con abundantes nutrientes metabólicos. Estos medios por lo general comprenden agar, una fuente de carbono, y un hidrolizado ácido o una fuente de material biológico sometida a degradación enzimática (p. ej., caseína). Puesto que la composición de estos últimos es indefinida, se denominan **medios complejos**.

Las muestras clínicas provenientes de sitios que por lo general no son estériles (p. ej., faringe o colon) contienen más de un tipo de microorganismo, incluidos patógenos potenciales y flora microbiana residente. Los medios pueden ser **no selectivos** o **selectivos** y se utilizan para distinguir entre diversas bacterias de una muestra clínica que contiene numerosos microorganismos.

1. Medios no selectivos

El agar sangre y agar chocolate constituyen ejemplos de medios complejos no selectivos que facilitan el crecimiento de diversas bacterias. Los medios no selectivos son importantes para aislar bacterias desconocidas en una muestra. Por lo general se observan muchos tipos de colonias bacterianas cuando las muestras clínicas se inoculan en un medio no selectivo.

2. Medios selectivos

En vista de la diversidad de microorganismos que habitan en algunos sitios (p. ej., el aparato intestinal), se utilizan medios selectivos para eliminar (o reducir) el gran número de bacterias irrelevantes en estas muestras. El fundamento de los medios selectivos es la incorporación de una sustancia que inhibe de manera selectiva el crecimiento de las bacterias irrelevantes. Algunos ejemplos de estas sustancias son:

- Azida de sodio: selecciona bacterias grampositivas entre las gramnegativas
- Sales biliares (p. ej., desoxicolato sódico): selecciona bacterias intestinales gramnegativas e inhibe a las bacterias gramnegativas de la mucosa y a la mayor parte de las grampositivas
- Colistina y ácido nalidíxico: inhiben el crecimiento de numerosas bacterias gramnegativas

Dos ejemplos de medios selectivos son el agar MacConkey (contiene bilis), que selecciona Enterobacteriaceae y el agar sangre CNA (contiene colistina y ácido nalidíxico) que selecciona estafilococos y estreptococos.

3. Medios diferenciales

Al cultivarse, algunas bacterias producen pigmentos característicos y otras se distinguen con base en su complemento de enzimas extracelulares; la actividad de estas enzimas se identifica al observar zonas claras alrededor de las colonias cultivadas en presencia de sustratos insolubles (p. ej., zonas de **hemólisis** en un agar que contiene eritrocitos). Muchos de los miembros de Enterobacteriaceae se distinguen por su potencial para metabolizar lactosa. Por ejemplo, las cepas patógenas de *Salmonella* y *Shigella* no fermentan lactosa y en el agar MacConkey forman colonias transparentes, mientras que los miembros de Enterobacteriaceae que fermentan lactosa (p. ej., *E. coli*) forman colonias rojas o rosas. El número de medios diferenciales utilizados actualmente en el laboratorio clínico rebasa el enfoque de este capítulo. Sin embargo, es importante señalar que la identificación bioquímica constituye un medio importante para clasificar a los microorganismos patógenos.

Microscopia bacteriana

Las bacterias agrupadas se pueden examinar usando muestras teñidas en forma adecuada. Desde el punto de vista histórico, la tinción de Gram, aunada a la visualización a través del microscopio óptico, es uno de los métodos más informativos para clasificar a las eubacterias. Esta técnica de tinción por lo general constituye el primer paso para dividir en términos generales a las bacterias con base en una serie de diferencias fundamentales en la estructura de sus paredes celulares (cap. 2). Las bacterias grampositivas poseen una pared celular semejante a una red que consta de peptidoglucano (50 a 90% del peso de la cubierta celular), mientras que las bacterias gramnegativas poseen una capa más delgada (10% del peso de la cubierta celular). La técnica para la tinción de Gram se describe en otro capítulo.

Pruebas bioquímicas

Algunos exámenes como la **prueba de la oxidasa**, en la que se utiliza un aceptor artificial de electrones, se emplean para diferenciar a los microorganismos con base en la presencia o ausencia de una enzima respiratoria, el citocromo C, cuya ausencia diferencia a las Enterobacteriaceae de otros bacilos gramnegativos. Asimismo, se puede utilizar la actividad de la **catalasa**, por ejemplo, para diferenciar entre los cocos grampositivos. También se puede utilizar la sensibilidad antimicrobiana (p. ej., colistina y/o ácido nalidíxico). Por último, existen numerosos ejemplos de pruebas bioquímicas que permiten buscar ciertas funciones metabólicas características y utilizarlas para agrupar a las bacterias en un **taxón** específico.

Pruebas inmunológicas: serotipos, serogrupos y serovariedades

La designación “sero” simplemente indica el uso de anticuerpos (policlonales o monoclonales) que reaccionan con estructuras específicas de la superficie celular bacteriana como los lipopolisacáridos (LPS), los flagelos o los antígenos capsulares. Los términos “serotipo”, “serogrupo” y “serovariedad”, para fines prácticos, son idénticos; todos ellos utilizan la especificidad de estos anticuerpos para subdividir a las cepas de una especie bacteriana.

Inestabilidad genética

El valor de un criterio taxonómico depende del grupo biológico que se está comparando. Los rasgos que comparten todos o ninguno de los miembros de un grupo no se pueden utilizar para diferenciar a cada uno de ellos, pero sí para definir al grupo (p. ej., todos los estafilococos producen la enzima catalasa). Los avances en la biología molecular permiten ahora investigar la relación de genes o genomas comparando secuencias de diversas bacterias (cap. 7). Para estos casos, la inestabilidad genética hace que ciertos rasgos sean muy variables dentro de un grupo biológico o incluso dentro de un grupo taxonómico. Por ejemplo, los genes que confieren resistencia antimicrobiana o los genes que codifican enzimas (utilización de lactosa, etc.), se transportan en **plásmidos** o **bacteriófagos** (cap. 7), elementos genéticos extracromosomales que pueden ser transferidos entre bacterias distintas o que pueden ser integrados en un subgrupo de cepas bacterianas que son idénticas en los demás sentidos. Muchos organismos son difíciles de cultivar y en estos casos son útiles las técnicas que revelan su afinidad midiendo la hibridación entre ácidos nucleicos o analizando la secuencia del DNA.

SISTEMAS DE CLASIFICACIÓN

Claves

Las claves organizan los rasgos bacterianos de una manera que permite la identificación eficaz de los organismos. El sistema ideal debe contener el número mínimo de características necesarias para una clasificación correcta. Los grupos se dividen en subgrupos más pequeños con base en la presencia (+) o ausencia (–) de una característica diagnóstica. Al continuar este proceso con distintas características el investigador será guiado hasta el subgrupo más pequeño que contenga al organismo analizado. Durante las primeras fases de este proceso, los organismos son asignados a subgrupos con base en características que no reflejan su relación genética. Por ejemplo, sería perfectamente razonable que una clave bacteriana incluyera a un grupo como “bacterias que forman pigmentos rojos cuando se propagan en un medio determinado”, no obstante, esto incluiría a algunas variantes sin relación alguna como *Serratia marcescens* (cap. 15) y bacterias fotosintéticas púrpuras (cap. 6). Estos dos grupos heterogéneos ocupan sitios distintos y dependen de un metabolismo energético totalmente diferente. Por lo tanto, sería útil hacer una clasificación preliminar del grupo puesto que ello inmediatamente obligaría al investigador a identificar un cultivo pigmentado de rojo para reducir la gama de posibilidades en grupos relacionados.

Taxonomía numérica

La taxonomía numérica (también llamada fenética o taxométrica) se popularizó durante el decenio de 1970. Estos esquemas de clasificación utilizan un gran número (a menudo mayor de 100) de características no ponderadas útiles desde el punto de vista taxonómico. El *Analytical Profile Index* (API) es un método que se utiliza a menudo para identificar un espectro amplio de microorganismos. El API consta de varias tiras de plástico, cada una de las cuales tiene 20 compartimientos miniatura que contienen reactivos bioquímicos. Los resultados de las pruebas con el API permiten identificar a casi todos los grupos de bacterias que se pueden cultivar y a más de 550 especies. Estos sistemas de identificación cuentan con bases de datos extensas de reacciones bioquímicas microbianas. Los grupos numéricos que se derivan de estas pruebas identifican distintas cepas a diversos grados de similitud total (por lo general >80% a nivel de la especie) con base en la frecuencia con la que comparten rasgos. Además, la clasificación numérica proporciona un porcentaje de frecuencia con la que todas las cepas de cada grupo exhiben características positivas. La limitante de este método es que es un **sistema estático** que no toma en cuenta la evolución de las bacterias ni el descubrimiento sistemático de bacterias patógenas nuevas.

Clasificación filogenética: para comprender las relaciones evolutivas entre las bacterias

Las clasificaciones filogenéticas son medidas realizadas entre dos organismos e implican que comparten un ancestro común. El registro de fósiles ha hecho que estas deducciones sean relativamente fáciles en muchos representantes de los reinos vegetal y animal. Sin embargo, no existe este tipo de registro para las bacterias y en ausencia de evidencia molecular es difícil diferenciar entre **evolución convergente** y **divergente** para los rasgos bacterianos.

Las propiedades genéticas de las bacterias permiten intercambiar genes entre organismos inconexos. Además, la multiplicación de las bacterias es casi por completo vegetativa y sus mecanismos de intercambio genético rara vez comprenden la recombinación entre grandes porciones de sus genomas (cap. 7). Por lo tanto, el concepto de una **especie**, que es la unidad fundamental de la filogenia eucariótica, tiene un significado completamente diferente cuando se aplica a las bacterias. La especie eucariótica es un grupo biológico cuyos miembros se pueden cruzar entre ellos con la finalidad de producir una descendencia variable. Puesto que las bacterias se multiplican en forma de clonación por medio de fisión binaria, no requieren un juego complementario de cromosomas para reproducirse. Por lo tanto, la definición de una especie bacteriana es necesariamente pragmática y se define operativamente. Para fines de la clasificación bacteriana, una **especie** es un grupo coherente, desde el punto de vista genómico, de aislados individuales o cepas que comparten una gran similitud en muchas características independientes, cuando se examinan comparativamente en condiciones muy estandarizadas. La decisión de limitar agrupaciones de organismos dentro de una especie bacteriana la toma el taxonomista, quien en ocasiones decidirá subdividir al grupo en **biotipos** y agrupar especies dentro de géneros respectivos. Otras veces propondrá agrupaciones más amplias como familias. En el cuadro 3-1 se enumeran las categorías formales utilizadas en la taxonomía de las bacterias. Para fines prácticos, por lo general sólo se utilizan las categorías de familia, género y especie. Las bacterias poseen una diversidad genética considerable. La clasificación química del DNA del genoma bacteriano revela un espectro muy amplio de composiciones de bases de nucleótidos entre las diversas cepas bacterianas. El contenido

de guanina + citosina (G + C) de bacterias afines es similar, lo que indica que se puede utilizar la afinidad genética del DNA de organismos similares como medida de afinidad taxonómica. Un método ordinario para definir las especies es el parámetro de la similitud de DNA-DNA con base en la diferencia del punto medio de desnaturalización térmica.

Un método más preciso es la secuenciación del DNA. Este método ya se ha convertido en un procedimiento sistemático y la comparación de las secuencias de DNA de genes divergentes ofrece una medida de su parentesco. Los genes para distintas funciones, como los que codifican antígenos de superficie para escapar a la vigilancia inmunitaria, se separan a una velocidad distinta a la de los genes "domésticos" como los que codifican los citocromos. Por lo tanto, se pueden utilizar las diferencias en las secuencias de DNA entre genes que se separan rápidamente para establecer la distancia genética de grupos de bacterias muy afines y se pueden usar las diferencias en la secuencia entre genes domésticos para medir el parentesco de grupos muy divergentes de bacterias.

RNA ribosómico

Los ribosomas tienen una función fundamental en la síntesis de las proteínas para todos los organismos. Las secuencias genéticas que codifican tanto RNA ribosómico (rRNA) como proteínas (ambas son necesarias para formar un ribosoma funcional) se han conservado a lo largo de la evolución, separándose con más lentitud que otros genes cromosómicos. Al comparar la secuencia de nucleótidos el RNA ribosómico 16S de un espectro de fuentes biológicas, se observaron relaciones evolutivas entre organismos muy divergentes, con lo que se descubrió un reino nuevo, las **arqueobacterias**. El árbol filogenético basado en la información del RNA ribosómico (rRNA) mostrando la división de las bacterias, arqueobacterias y familias eucarióticas, se muestra en la figura 3-1, en la que se observan los tres dominios principales de vida biológica como se conocen en la actualidad. Con base en este esquema, dos reinos, las Eubacterias (bacterias verdaderas) y las arqueobacterias difieren de la rama eucariótica.

DESCRIPCIÓN DE LAS PRINCIPALES CATEGORÍAS Y GRUPOS DE BACTERIAS

Manual de Bergey de bacteriología sistemática

La obra definitiva sobre la organización taxonómica de las bacterias es la última edición del *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* Fue publicado por primera vez en 1923 y esta publicación clasifica desde el punto de vista taxonómico a las bacterias conocidas que han sido o no cultivadas o bien descritas, en forma de una clave. Otro volumen, el *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology,* ayuda a identificar a las bacterias que han sido descritas y cultivadas. En el cuadro 3-2 se presentan las principales bacterias que causan enfermedades infecciosas, según el *Bergey's Manual.* Es probable que la información que cambia constantemente acerca de las relaciones filogenéticas genere modificaciones ulteriores en la organización de los grupos bacterianos dentro del *Bergey's Manual,* es por ello que sus nominaciones se deben considerar un trabajo en progreso.

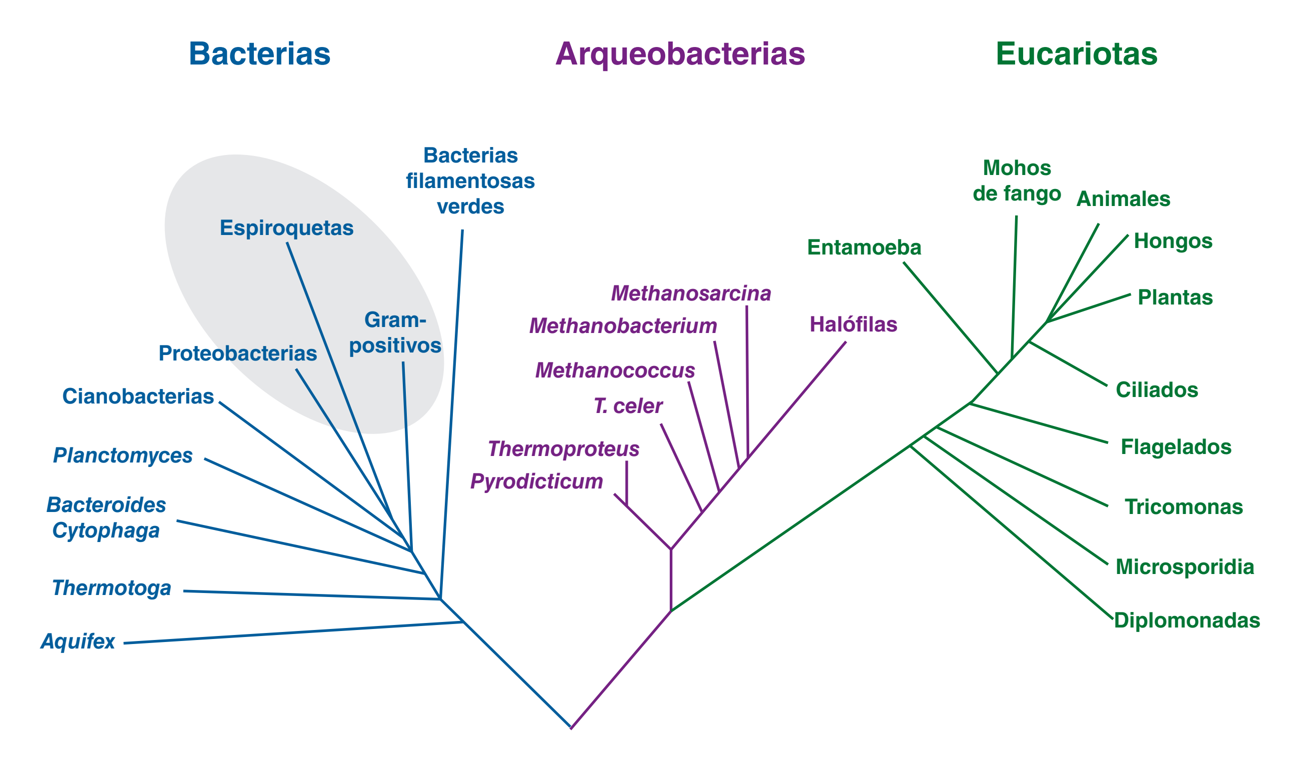


FIGURA 3-1 Árbol filogenético con base en la información del rRNA, mostrando la separación de las familias de bacterias, arqueobacterias y eucariotas. Los grupos de bacterias patógenas mejor conocidas se encuentran en color azul. El único grupo de bacterias patógenas que no se acumula en esta área sombreada es el grupo *Bacteroides*.

CUADRO 3-2 Categorías principales y grupos de bacterias patógenas en seres humanos como parte de un esquema de identificación descrito en el *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th ed.

Manual de Bergey de bacteriología sistemática	
I. Eubacterias gramnegativas con paredes celulares	
Grupo 1: Espiroquetas	*Treponema*
	Borrelia
	Leptospira
Grupo 2: Bacterias aerobias/microaerófilas, móviles helicoidales/vibroides gramnegativos	*Campylobacter*
	Helicobacter
	Spirillum
Grupo 3: Bacterias curvas inmóviles (o rara vez móviles)	Ninguna
Grupo 4: Bacilos y cocos gramnegativos aerobios/microaeófilos	*Alcaligenes*
	Bordetella
	Brucella
	Francisella
	Legionella
	Moraxella
	Neisseria
	Pseudomonas
	Rochalimaea
	Bacteroides (algunas especies)
Grupo 5: Bacilos gramnegativos anaerobios facultativos	*Escherichia* (y bacterias coliformes afines)
	Klebsiella
	Proteus
	Providencia
	Salmonella
	Shigella
	Yersinia
	Vibrio
	Haemophilus
	Pasteurella
Grupo 6: Bacilos gramnegativos, anaerobios, rectos, curvos y helicoidales	*Bacteroides*
	Fusobacterium
	Prevotella
Grupo 7: Bacterias desasimiladoras de sulfato o reductoras de azufre	Ninguna
Grupo 8: Cocos gramnegativos anaerobios	Ninguno
Grupo 9: Rickettsias y clamidias	*Rickettsia*
	Coxiella
	Chlamydia
Grupo 10: Bacterias fotótrofas anoxígenas	Ninguna
Grupo 11: Bacterias fotótrofas oxígenas	Ninguna
Grupo 12: Bacterias aerobias quimiolitótrofas y microorganismos variados	Ninguna
Grupo 13: Bacterias con apéndice o yemas	Ninguna
Grupo 14: Bacterias envainadas	Ninguna
Grupo 15: Bacterias deslizantes no fotosintéticas y no formadoras de grupos fructíferos	*Capnocytophaga*
Grupo 16: Bacterias deslizantes formadoras de grupos fructíferos: mixobacterias	Ninguna
II. Bacterias grampositivas con pared celular	
Grupo 17: Cocos grampositivos	*Enterococcus*
	Peptostreptococcus
	Staphylococcus
	Streptococcus
Grupo 18: Bacilos y cocos grampositivos formadores de endosporas	*Bacillus*
	Clostridium
Grupo 19: Bacilos grampositivos regulares no formadores de esporas	*Erysipelothrix*
	Listeria
Grupo 20: Bacilos grampositivos irregulares no formadores de esporas	*Actinomyces*
	Corynebacterium
	Mobiluncus
Grupo 21: Micobacterias	*Mycobacterium*
Grupo 22-29: Actinomicetos	*Nocardia*
	Streptomyces
	Rhodococcus
III. Eubacterias sin pared celular: Micoplasmas o Mollicutes	
Grupo 30: Micoplasmas	*Mycoplasma*
	Ureaplasma
IV. Arqueobacterias	
Grupo 31: Metanógenos	Ninguno
Grupo 32: Arqueorreductores de sulfato	Ninguno
Grupo 33: Arqueobacterias excesivamente halófilas	Ninguno
Grupo 34: Arqueobacterias sin pared celular	Ninguno
Grupo 35: Metabolizadores excesivamente termófilos y metabolizadores de azufre excesivamente termófilos	Ninguno

Como ya se describió en el capítulo 2, existen dos grupos de organismos procarióticos: eubacterias y arqueobacterias. Ambos son organismos unicelulares pequeños que se multiplican en forma asexual. El término eubacterias se refiere a las bacterias clásicas, según lo ha considerado la ciencia a lo largo de la historia. Carecen de un núcleo verdadero, poseen lípidos característicos que forman sus membranas, tienen una pared celular de peptidoglucano y una maquinaria para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos que se puede inhibir en forma selectiva por medio de antimicrobianos. Por el contrario, las arqueobacterias no poseen una pared celular clásica de peptidoglucano y tienen muchas características (p. ej., maquinaria para la síntesis de proteínas y multiplicación de ácidos nucleicos) que son similares a las de las células eucariotas (cuadro 3-3).

Eubacterias

A. Eubacterias gramnegativas

Este es un grupo heterogéneo de bacterias con una cubierta celular compleja (tipo gramnegativa) que consta de una membrana externa, un espacio periplásmico que contiene una capa delgada de peptidoglucano y una membrana citoplásmica. La forma de la célula (fig. 3-2) puede ser esférica, ovalada, como bastón recto o curvo, helicoidal o filamentosa; algunas se encuentran recubiertas o encapsuladas. Se reproducen por fisión binaria, pero algunos grupos se reproducen por gemación. Las mixobacterias forman cuerpos fructíferos y mixosporas. Su motilidad, cuando existe, se lleva a cabo por medio de flagelos o por deslizamiento. Los miembros de esta categoría pueden ser **fotótrofo** o **no fotótrofo** (cap. 5) y comprenden especies **aerobias**, **anaerobias**, **anaerobias facultativas** y **microaerófilas**; algunos miembros son parásitos intracelulares obligados.

B. Eubacterias grampositivas

En estas bacterias el perfil de la pared celular es similar al del tipo grampositivo; las células por lo general, pero no siempre, son grampositivas. La cubierta celular de los organismos grampositivos consta de una pared gruesa que establece la forma de la célula y una membrana citoplásmica. Estas células pueden ser encapsuladas y tener motilidad por medio de flagelos. Las células son esféricas, bacilares o filamentosas; los bastones y filamentos son ramificados o no ramificados; y quizá muestren una ramificación verdadera. Algunas bacterias de esta categoría producen **esporas** (p. ej., *Bacillus* y *Clostridium* spp) como

CUADRO 3-3 Características principales que comparten las arqueobacterias y células eucarióticas y que no existen en las eubacterias

Característica	Eubacteria	Arqueobacterias, eucariotas
El factor-2 de elongación (EF-2) contiene al aminoácido diftamida y por lo tanto es ADP-ribosilable por la toxina de la difteria	No	Sí
Iniciador metionilo tRNA sin formilación	No	Sí
Algunos genes de tRNA contienen intrones	No	Sí en eucariotas
La síntesis de proteínas es inhibida por anisomicina pero no por cloranfenicol	No	Sí
Las polimerasas de RNA dependientes de DNA son enzimas con múltiples componentes que son insensibles a los antibióticos rifampicina y estreptomicina	No	Sí
Las polimerasas de RNA dependientes de DNA son enzimas con múltiples componentes insensibles a los antibióticos rifampicina y estreptolidigina	No	Sí

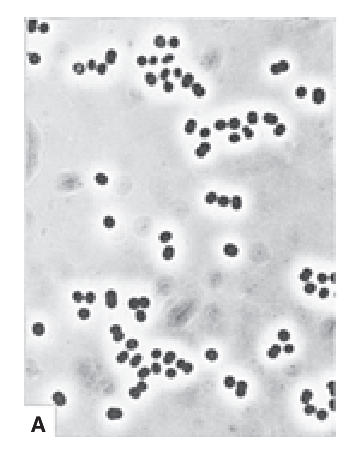






FIGURA 3-2 Formas celulares entre las bacterias verdaderas unicelulares. (A) Cocos. (B) Bastones (bacilos). (C) Espirales. (Contraste de fase, 1500×) (Reimpresa con autorización de Stanier RY, Doudoroff M, Adelberg EA: *The Microbial World*, 3rd ed. Derechos reservados © 1970. Con autorización de Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ.)

formas latentes que son muy resistentes a la desinfección. Las eubacterias grampositivas por lo general son **heterótrofos quimiosintéticos** (cap. 5) y comprenden especies aerobias, anaerobias y anaerobias facultativas. Los grupos dentro de esta categoría comprenden bacterias asporógenas simples y esporógenas, así como a los actinomicetos complejos desde el punto de vista estructural y otros miembros de su familia.

C. Eubacterias sin paredes celulares

Estos son microorganismos que carecen de pared celular (a menudo llamados **micoplasmas**, que forman la clase Mollicutes) y no sintetizan los precursores del peptidoglucano. Se encuentran encerrados por una membrana unitaria, la membrana plasmática (fig. 3-3). Son similares a las **formas L** (cap. 25) que son generadas por muchas especies de bacterias (principalmente eubacterias grampositivas); sin embargo, a diferencia de las formas L, los micoplasmas no cambian a un estado con pared y no existen relaciones antigénicas entre los micoplasmas y formas L eubacterianas.

Seis géneros han sido designados como micoplasmas (cap. 25) con base en su hábitat; sin embargo, sólo dos géneros contienen patógenos animales. Los micoplasmas son organismos altamente polimorfos cuyo tamaño varía desde vesicular hasta muy pequeño (0.2 μm), formas filtrables (significa que son muy pequeñas para ser capturadas por filtros que atrapan la mayor parte de las bacterias). Se reproducen por gemación, fragmentación o fisión binaria, de manera aislada o en combinación. La mayor parte de las especies necesita un medio complejo para crecer y tiende a formar colonias características con forma de "huevo estrellado" en un medio sólido. Una característica única de los Mollicutes es que algunos géneros necesitan colesterol para crecer; el colesterol no esterificado es un componente único de las membranas de las especies que necesitan y no necesitan esterol si está presente en el medio.

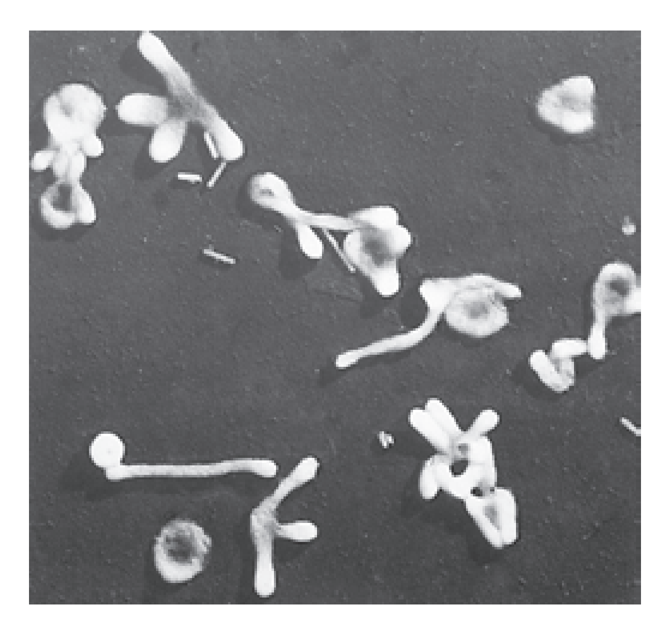


FIGURA 3-3 Microfotografía electrónica de las células de un miembro del grupo de los micoplasmas, causa de la bronconeumonía en la rata (1960×). (Reimpresa con autorización de Klieneberger-Nobel E, Cuckow FW: A study of organisms of the pleuropneumonia group by electron microscopy. J Gen Microbiol 1955;12:99.)

Arqueobacterias

Estos organismos habitan principalmente los ambientes terrestres y acuáticos extremos (concentración elevada de sal, temperaturas elevadas, ambiente anaerobio) y a menudo se les llama "extremófilas"; algunas son simbiontes en el tubo digestivo de los animales. Las arqueobacterias comprenden organismos aerobios, anaerobios y anaerobios facultativos que son **quimiolitótrofos**, **heterótrofos** o **heterótrofos facultativos** (cap. 5). Algunas especies son **mesófilas**, mientras que otras son capaces de crecer a temperaturas superiores a 100°C. Estas arqueobacterias hipertermófilas están adaptadas para crecer y multiplicarse a temperaturas elevadas. Con algunas excepciones, las enzimas aisladas a partir de estos organismos son más termoestables que sus contrapartes obtenidas de organismos mesófilos. Algunas de estas enzimas termoestables, como la polimerasa de DNA de *Thermus aquaticus* (polimerasa Taq) son componentes importantes de los métodos de amplificación del DNA como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*).

Las arqueobacterias se distinguen de las eubacterias en parte, por la ausencia de una pared celular de peptidoglucano, la posesión de lípidos de isoprenoide diéter o diglicerol tetraéter y las secuencias características de RNA ribosómico. Asimismo, las arqueobacterias comparten algunas características moleculares con las eucariotas (cuadro 3-3). Las células tienen diversas formas incluidas las esféricas, espirales y como placa o bastón; también existen variedades unicelulares o multicelulares en forma de filamentos o conglomerados. Su multiplicación es por fisión binaria, gemación, constricción, fragmentación o algún otro mecanismo desconocido.

SUBTIPIFICACIÓN Y SU APLICACIÓN

Bajo ciertas circunstancias (como una epidemia), es importante distinguir entre las cepas de determinada especie o identificar una cepa específica. Esto se denomina **subtipificación** y se lleva a cabo examinando las cepas bacterianas aisladas en busca de características que permitan distinguir por debajo del nivel de especie. Habitualmente, la subtipificación se lleva a cabo por medio de biotipificación, serotipificacion, pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos y tipificación de bacteriófagos. Por ejemplo, se han identificado más de 130 serogrupos de *Vibrio cholerae* con base en las diferencias antigénicas del polisacárido-O de su LPS. No obstante, sólo los serogrupos O1 y O139 se relacionan con cólera epidémico y pandémico. Dentro de estos serogrupos, sólo las cepas que producen pilus en forma de fascículos y toxina del cólera son virulentas y generan la enfermedad. Por el contrario, las cepas no toxígenas de *V. cholerae,* que no causan cólera epidémica, han sido aisladas a partir de muestras ambientales, alimentos y pacientes con diarrea esporádica.

Tipificación serológica

Un concepto importante en la epidemiología de las enfermedades infecciosas es la clonalidad en relación con las cepas aisladas de microorganismos a partir de un brote con un origen común (**diseminación a partir de un punto**). Los agentes causantes de estos brotes por lo general son **clonales**; en otras palabras, son la progenie de una sola célula y, por lo tanto, para fines prácticos,

son idénticas desde el punto de vista genético. De esta manera, la subtipificación tiene una función muy importante para distinguir a estos microorganismos. Los avances recientes en biotecnología han mejorado en forma importante nuestra capacidad para subtipificar microorganismos. La tecnología de hibridoma ha permitido el desarrollo de anticuerpos monoclonales contra los antígenos de superficie celular, que se han utilizado para crear sistemas de subtipificacion basada en anticuerpos altamente estandarizados que describen **serotipos** bacterianos. Esta es una herramienta importante para definir la diseminación epidemiológica de una infección bacteriana.

Otros organismos no se pueden identificar como serotipos únicos. Por ejemplo, algunos organismos patógenos (p. ej., *Neisseria gonorrhoeae*) se transmiten en forma de inóculo formado por **cuasiespecies** (lo que significa que existe una variación antigénica extensa entre las bacterias del inóculo). En estos casos, se utilizan grupos de hibridomas que reconocen variantes de los organismos originales para clasificar las serovariantes o **serovariedades**. La **genotipificación por electroforesis de enzimas en multilocus** (MLEE, *multilocus enzyme electrophoresis*) ha sido un método estándar para investigar la genética de la población eucariótica y también se ha utilizado para estudiar la diversidad genética y estructura clonal de los microorganismos patógenos. En la MLEE se establece la movilidad de un grupo de enzimas solubles (por lo general de 15 a 25 enzimas) por medio de electroforesis en gel de almidón. Puesto que la velocidad con la que una proteína se desplaza durante la electroforesis y su carga electrostática neta dependen de la secuencia de sus aminoácidos, las variedades de motilidad (denominadas **electromorfos** o **alozimas**) de una enzima, reflejan sustituciones de aminoácidos en la secuencia de proteínas, lo que refleja cambios en la secuencia del DNA que codifica la proteína. Los genes estructurales que codifican enzimas en *E. coli* exhiben una diversidad genética extensa; no obstante, al utilizar la MLEE, los investigadores en los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) pudieron establecer que las cepas de *E. coli* serotipo O157:H7, microorganismo patógeno relacionado con los brotes de colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (HUS, *hemolytic uremic syndrome)* en niños (cap. 15), descienden de un clon que tiene una distribución extensa en Estados Unidos.

Huella química

La caracterización o identificación de las cepas aisladas ha mejorado al aplicar una serie de métodos físicos a las células procariotas como la espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR, *Fourier transform infrared spectroscopy*), pirólisis/espectrometría de masas y desorción por láser asistida por una matriz/ionización con tiempo de vuelo (Maldi/Tof) o espectometría de masas con ionización en aerosol. El equipo necesario para estas técnicas es costoso y no se encuentra disponible en todos los laboratorios clínicos.

TAXONOMÍA BASADA EN ÁCIDOS NUCLEICOS

A partir de 1975, los avances en el aislamiento, amplificación e identificación de secuencias de ácidos nucleicos estimuló la evolución de los sistemas de subtipificación basados en ácidos nucleicos. Éstos comprenden al análisis del perfil de plásmidos, análisis de endonucleasas de restricción, ribotipificación, electroforesis pulsada en gel de campo, amplificación por la PCR y digestión de genes específicos empleando endonucleasas de restricción, PCR usando iniciadores arbitrarios y análisis de secuencias de ácidos nucleicos.

Análisis de plásmidos

El análisis del perfil de plásmidos fue la primera técnica basada en ácidos nucleicos y también la más sencilla aplicada a estudios epidemiológicos. Los plásmidos, que son elementos genéticos extracromosomales (cap. 7) se aíslan a partir de cada bacteria y luego se separan por medio de electroforesis en gel de agarosa para establecer su número y tamaño. Sin embargo, en ocasiones en una misma bacteria existen plásmidos del mismo tamaño con secuencias distintas. Por lo tanto, la digestión de los plásmidos con endonucleasas de restricción para comparar posteriormente el número y tamaño de los fragmentos de restricción resultantes a menudo ofrece información adicional útil. Se ha demostrado que el análisis de los plásmidos es particularmente útil para examinar brotes limitados en tiempo y lugar (p. ej., un brote en un hospital), en especial cuando se combina con otros métodos de identificación.

Análisis con endonucleasas de restricción

Uno de los procedimientos básicos en la biología molecular es utilizar enzimas de restricción para desdoblar al DNA en fragmentos definidos. Las endonucleasas de restricción reconocen secuencias cortas de DNA (secuencia de restricción) y desdoblan al DNA bicatenario dentro de esta secuencia o adyacente a la misma. Las secuencias de restricción varían de cuatro a más de 12 bases de longitud y aparecen en todo el cromosoma bacteriano. Las enzimas de restricción que reconocen secuencias cortas (p. ej., cuatro pares de bases) son más frecuentes que las que reconocen secuencias más largas (p. ej., 12 pares de bases). De esta manera, las enzimas que reconocen secuencias cortas de DNA producirán más fragmentos que las enzimas que reconocen secuencias largas poco frecuentes de DNA. En varios métodos de subtipificación se usa DNA digerido por endonucleasas de restricción. El método básico comprende la digestión del DNA con una enzima que reconoce un sitio de restricción frecuente y separa los fragmentos, que por lo general miden entre 0.5 y 50 kb de longitud, por medio de electroforesis en gel de agarosa y posteriormente se observa bajo luz ultravioleta después de teñirlo con bromuro de etidio. Una de las principales limitaciones de esta técnica es la dificultad para interpretar los perfiles complejos que constan de cientos de bandas incompletas y superpuestas. Este problema se ha resuelto utilizando endonucleasas de restricción que seccionan en los sitios de restricción poco frecuentes. La digestión del DNA con estas enzimas por lo general genera entre cinco y 20 fragmentos que varían de 10 a 800 kb de longitud. La separación de estos fragmentos grandes de DNA se logra por medio de una técnica llamada **electroforesis en gel de campo pulsado** (PFGE, *pulsed field gel electrophoresis*), que requiere equipo especializado. En teoría, cualquier cepa bacteriana se puede tipificar con este método. Su ventaja es que el perfil de restricción consta de bandas completas que representan al cromosoma bacteriano completo en un solo gel.

Análisis por medio de la técnica de Southern blot

Esta técnica recibe el nombre de su creador, Edwin Mellor Southern, y se ha utilizado como método de subtipificación para identificar cepas aisladas que generan brotes. Para este análisis, las preparaciones de DNA de las cepas bacterianas aisladas se someten a digestión con una endonucleasa de restricción. Después de la electroforesis en gel de agarosa, los fragmentos separados se transfieren a una membrana de nitrocelulosa o nailon. Estos fragmentos de DNA bicatenario primero se convierten en secuencias lineales monocatenarias. Utilizando como sonda un fragmento marcado de DNA, es posible identificar los fragmentos de restricción que contienen secuencias (loci) que son

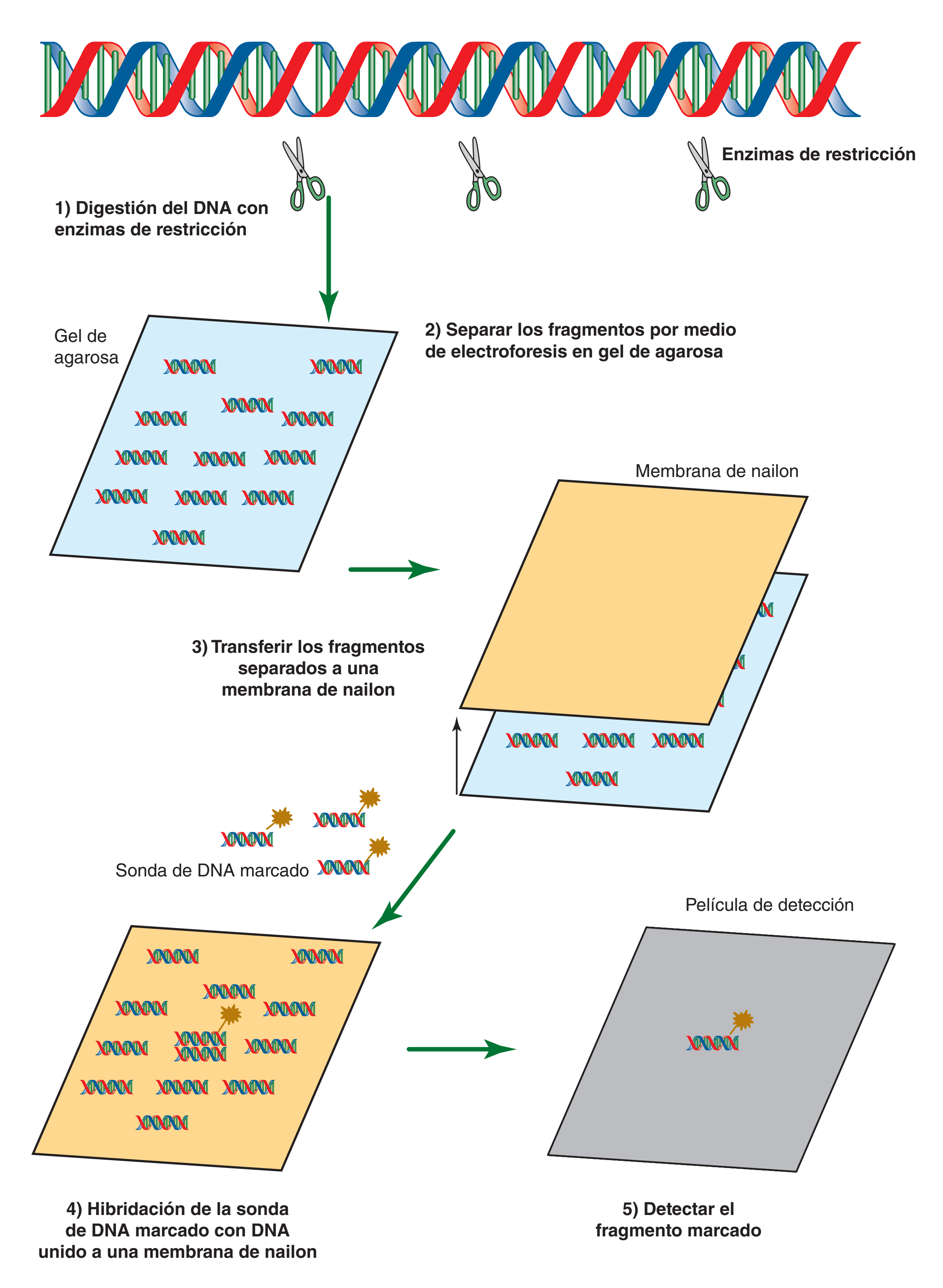


FIGURA 3-4 Técnica de Southern blot mostrando cómo es posible identificar loci específicos en fragmentos divididos de DNA por medio de una sonda de DNA marcado. Este procedimiento básicamente permite distinguir DNA a tres niveles: 1) a nivel del reconocimiento de enzimas de restricción, 2) por medio del tamaño del fragmento del DNA y 3) por medio de la hibridación de la sonda de DNA a un locus específico definido por una banda de tamaño específico en una posición específica de la membrana.

homólogas a la sonda por complementación con los fragmentos monocatenarios de la muestra adheridos (fig. 3-4). El término **polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción** (RFLP, *restriction fragment length polymorphisms*) se refiere a variaciones tanto en el número de loci que son homólogos a la sonda como a la ubicación de los sitios de restricción que se encuentran dentro o rodeando a estos loci.

Ribotipificación

En este método se utiliza la técnica de Southern blot para identificar polimorfismos de genes de rRNA, que existen en todas las bacterias. Puesto que las secuencias ribosómicas se conservan, se pueden detectar con una sonda común preparada a partir del rRNA 16S y 23S de una eubacteria *E. coli*. Muchos organismos poseen copias múltiples (cinco a siete) de estos genes, generando patrones con el número suficiente de bandas como para ofrecer un buen poder de discriminación; sin embargo, la ribotipificación tiene una utilidad limitada en algunos microorganismos como micobacterias, que poseen una sola copia de estos genes.

Secuencias repetitivas

En la era genómica actual de medicina molecular, ya se ha identificado la secuencia de cientos de genomas microbianos. Se cuenta con numerosas herramientas de bioinformática que permiten explotar esta abundancia de información sobre la secuencia del DNA para identificar a los efectores recientes para la subtipificación patógena, como son las **secuencias repetitivas** que se han encontrado en diversas especies (cap. 7). Estas secuencias repetitivas se denominan **DNA satélite** y constan de unidades que se repiten a una frecuencia de 10 a 100 bp. A menudo se les conoce como **número variable de repeticiones en tándem** (VNTR, *variable number tandem repeats*). Se han encontrado VNTR en regiones que regulan la expresión génica dentro de marcos abiertos de lectura. Cada locus de VNTR es definido por la unidad que se repite y el número de copias repetidas lateralmente. Existe un método de genotipificación que utiliza PCR, llamado **análisis de VNTR en múltiples loci** (MLVA, *multiple-loci VNTR analysis*) que aprovecha los niveles de diversidad generados por las variaciones en el tamaño de las unidades repetidas y el número de copias en determinados loci caracterizados. Ha resultado ser especialmente útil para la subtipificación de ciertas especies monomorfas como *Bacillus anthracis, Yersinia pestis* y *Francisella tularensis.*

Medicina forense microbiana

Los métodos de la genotipificación han mejorado para lograr identificar **polimorfismos de un solo nucleótido** (SNP, *single nucleotide polymorphisms*) en marcos abiertos de lectura y regiones intergénicas con el fin de responder a numerosas interrogantes tanto epidemiológicas como evolutivas. El campo de la medicina forense microbiana evolucionó durante los ataques bioterroristas con esporas de *Bacillus anthracis* (**carbunco**) durante el otoño del año 2001. Esta ciencia formaba parte de la investigación criminal y abarcaba el uso de muchas de las técnicas antes descritas para identificar la cepa exacta y subcepa de microorganismos utilizados en un ataque biológico y su origen significativo desde el punto de vista forense.

MÉTODOS SIN CULTIVOS PARA IDENTIFICAR MICROORGANISMOS PATÓGENOS

Es difícil calcular el número total de eubacterias, arqueobacterias y virus por una serie de dificultades, como su detección y obtención en el ambiente, los conocimientos incompletos sobre las relaciones microbianas obligadas y el problema del concepto de especie en estos grupos. Sin embargo, los cálculos indican que el número de taxones microbianos no cultivados es mucho mayor que el de los organismos que se han cultivado (cuadro 3-4). Sin embargo, los cálculos más recientes indican que el número de especies bacterianas en el mundo es de 10^7 a 10^9. Hasta hace poco tiempo, para identificar microorganismos era necesario aislar cultivos puros (o en algunos casos cocultivos definidos) y posteriormente realizar una serie de pruebas fisiológicas y bioquímicas. Los médicos saben desde hace tiempo que muchas enfermedades son producidas por microorganismos visibles que no se pueden cultivar. En la actualidad los científicos están utilizando técnicas con PCR y rRNA para identificar microorganismos patógenos *in situ*. La primera fase de este método comprende la extracción del DNA de una muestra adecuada, el uso de técnicas moleculares tradicionales para obtener una colección de clones, la extracción de información de las secuencias de rRNA y el análisis comparativo de las secuencias extraídas. De esta manera se obtiene información sobre la identidad o afinidad de las secuencias frente a las bases de datos existentes. En la segunda fase se debe comprobar que las secuencias provienen de células de la muestra original por medio de hibridación *in situ* con sondas específicas para ciertas secuencias. Este método se ha utilizado para identificar microorganismos patógenos. Por ejemplo, un microorganismo patógeno que no se había catalogado antes, ahora se identificó como la bacteria con forma de bastón vinculada con la enfermedad de Whipple ahora llamada *Tropheryma whipplei.* Esta técnica de rRNA también se ha utilizado para identificar el agente causante de la angiomatosis bacilar como *Bartonella henselae* y para demostrar que el patógeno oportunista *Pneumocystis jiroveci* forma parte de la familia de los hongos. Indudablemente esta y otras técnicas identificarán otros microorganismos causales en el futuro.

CUADRO 3-4 Número conocido y calculado de especies biológicas[a]

Grupo	Especies conocidas	Total calculado de especies	Porcentaje de especies conocidas
Virus	5 000	130 000	4
Bacterias	4 760	40 000	12
Hongos	69 000	1 500 000	5
Algas	40 000	60 000	67
Protozoarios	30 800	100 000	31

[a] Modificado de Bull AT y col: Biodiversity as a source of innovation in biotechnology. Ann Rev Microbiol 1992;46:219.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Las eubacterias que carecen de paredes celulares y no sintetizan los precursores del peptidoglucano se denominan:
   (A) Bacterias gramnegativas
   (B) Virus
   (C) Micoplasmas
   (D) Serovariedad
   (E) Bacilos
2. Las arqueobacterias se distinguen de las eubacterias por su falta de:
   (A) DNA
   (B) RNA
   (C) Ribosomas
   (D) Peptidoglucano
   (E) Núcleo
3. Un paciente de 16 años de edad con fibrosis quística es hospitalizado. El cultivo de su esputo arroja *Burkholderia cepacia.* Posteriormente aparecen otros dos pacientes con bacteremia por *Burkholderia cepacia* y el microorganismo se cultiva en el esputo de otros cuatro pacientes. Durante este brote hospitalario de *Burkholderia cepacia,* se están realizando estudios de subtipificación en 50 muestras del ambiente y siete pacientes para identificar el origen del brote. ¿Cuál de las siguientes técnicas sería más útil para esta tarea?
   (A) Cultivo
   (B) Ribotipificación
   (C) Secuencia de rRNA 16S
   (D) Pruebas de sensibilidad antimicrobiana
   (E) Secuencia de ácidos nucleicos
4. En las muestras hísticas obtenidas de pacientes con una enfermedad desconocida, se observa un microorganismo grampositivo que no se puede cultivar. ¿Cuál de las siguientes técnicas sería más útil para identificar al microorganismo?
   (A) Serología
   (B) Amplificación con PCR y secuencia de genes de rRNA
   (C) Electroforesis enzimática de múltiples loci
   (D) Electroforesis en gel de SDS-poliacrilamida
   (E) Electroforesis pulsada en gel de campo
5. La polimerasa de DNA de *Thermus aquaticus* es un componente importante de los métodos de amplificación de DNA como la reacción en cadena de polimerasa. Este organismo crece a temperaturas mayores de 100°C. Los organismos que crecen a estas temperaturas se denominan:
   (A) Mesófilos
   (B) Psicrófilos
   (C) Halófilos
   (D) Termófilos
   (E) Quimiolitótrofos

Respuestas

1. C 3. E 5. D
2. D 4. B

BIBLIOGRAFÍA

Achtman M, Wagner M: Microbial diversity and the genetic nature of microbial species. Nat Rev Microbiol 2008;6:431.

Amann RI, Ludwig W, Schleiff er K-H: Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without culture. Microbiol Rev 1995;59:143.

Boone DR, Castenholz RW (editors): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 1. *The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria*, 2nd ed. Springer, 2001.

Breeze RG, Budowle B, Schutzer SE (editors): *Microbial Forensics*. Elsevier, 2005.

Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT (editors): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 2. *The Proteobacteria*. Part A. *Introductory Essays*. Springer, 2005.

Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT (editors): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 2. *The Proteobacteria*. Part B. *The Gammaproteobacteria*. Springer, 2005.

Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT (editors): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 3. *The Proteobacteria*. Part C. *The Alpha-, Beta-, Delta-, and Episilonproteobacteria*. Springer, 2005.

Colwell RR, Grimes DJ (editors): *Nonculturable microorganisms in the Environment*. ASM Press, 2000.

Curtis TP, Sloan WT, Scannell JW: Estimating prokaryotic diversity and its limits. Proc Natl Acad Sci U S A 2002;99:10494.

Edman JC et al: Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carinii* to be a member of the fungi. Nature (London) 1988;334:519.

Fernandez LA: Exploring prokaryotic diversity: Th ere are other molecular worlds. Molec Microbiol 2005;55:5-15.

Fredericks DN, Relman DA: Sequence-based identification of microbial pathogens: A reconsideration of Koch's postulates. Clin Microbiol Rev 1996;9:18.

Holt JG et al (editors): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th ed. Williams & Wilkins, 1994.

Medini D et al: Microbiology in the post-genomic era. Nat Rev Microbiol 2008;6:429.

Persing DH et al (editors): *Molecular Microbiology. Diagnostic Principles and Practice*. ASM Press, 2004.

Riley LW: *Molecular Epidemiology of Infectious Diseases. Principles and Practices*. ASM Press, 2004.

Rosello-Mora R, Amann R: The species concept for prokaryotes. FEMS Microbiol Rev 2001;25:39.

Schloss PD, Handelsman J: Status of the microbial census. Microbiol Molec Biol Rev 2004;68:686.

Stringer JR et al: A new name (*Pneumocystis jiroveci*) for Pneumocystis from humans. Emerg Infect Dis 2002;8:891.

Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ: Prokaryotes: The unseen majority. Proc Natl Acad Sci U S A 1998;95:6578.



C A P Í T U L O

4

Desarrollo, supervivencia y muerte de los microorganismos

SUPERVIVENCIA DE LOS MICROORGANISMOS EN EL AMBIENTE NATURAL

La población de microorganismos en la biosfera se mantiene más o menos constante: el contrapeso del crecimiento es la muerte. Para que cualquier grupo microbiano sobreviva en su nicho, debe competir de manera satisfactoria por los nutrientes y mantener un fondo de células vivas durante la privación de alimentos. Cada vez resulta más evidente que muchos microorganismos existen en consorcios formados por representantes de diferentes géneros. Otros microorganismos, a menudo caracterizados como células aisladas en el laboratorio, forman colonias aglutinadas en el ambiente natural.

La mayor parte de nuestros conocimientos sobre la fisiología microbiana proviene del estudio de líneas celulares aisladas y cultivadas en condiciones óptimas y estos conocimientos forman la base de esta sección. No obstante, se debe recordar que muchos microorganismos compiten en el ambiente natural cuando amenaza su alimentación, circunstancia que genera un estado fisiológico distinto del que se observa en el laboratorio. Además, también es importante reconocer que cuando un nicho microbiano se vacía en el ambiente, se llena rápidamente. Las técnicas de salud pública que aniquilan microorganismos patógenos eliminando su nicho probablemente son menos eficaces que los métodos que dejan el nicho ocupado por otros competidores no patógenos.

IMPORTANCIA DEL CRECIMIENTO

El crecimiento es el aumento ordenado en la suma de todos los componentes de un microorganismo. Por lo tanto, el aumento en el tamaño como resultado de la captación de agua por parte de la célula o el depósito de lípidos o polisacáridos no constituye un desarrollo verdadero. La multiplicación celular es consecuencia del desarrollo; en los organismos unicelulares, el desarrollo provoca incremento en el número de individuos que constituyen una población o cultivo.

Medida de las concentraciones microbianas

Las concentraciones microbianas se miden en términos de concentración celular (número de células viables por volumen unitario de cultivo) o concentración de biomasa (peso seco de las células por volumen unitario de cultivo). Estos dos parámetros no siempre son equivalentes, puesto que el peso seco celular promedio varía durante las distintas etapas en la historia de un cultivo. Tampoco tienen la misma importancia: en los estudios sobre genética microbiana o desactivación celular, la concentración celular es la cantidad significativa; en los estudios sobre bioquímica o nutrición microbiana, la cantidad importante es la concentración de la biomasa.

A. Concentración celular

La concentración de células viables (cuadro 4-1) se considera por lo general la medida de la concentración celular. Sin embargo, para muchos fines, la turbidez de un cultivo, que se mide por medios fotoeléctricos, depende de la cuenta viable en forma de **curva estándar**. Algunas veces es posible hacer un cálculo visual aproximado. La suspensión ligeramente turbia de *Escherichia coli* contiene aproximadamente 10^7 células/ml y una suspensión moderadamente turbia contiene cerca de 10^8 células/ml. Cuando se utiliza la medida de turbidez es importante recordar que la correlación entre turbidez y cuenta variable varía durante el desarrollo y muerte de un cultivo; las células pierden viabilidad sin que el cultivo pierda turbidez.

B. Densidad de la biomasa

En principio, la biomasa se mide directamente al determinar el peso seco de un cultivo microbiano después de haberlo lavado con agua destilada. En la práctica, este procedimiento es engorroso y el investigador, por costumbre, prepara una curva tradicional que correlaciona al peso seco con la turbidez. Otro método para calcular la concentración de la biomasa de manera indirecta es medir un componente celular importante como las proteínas o el volumen ocupado por las células que se han asentado en una suspensión.

PROLIFERACIÓN EXPONENCIAL

Constante de la tasa de proliferación

La tasa de proliferación de las células sin limitación de nutrientes es de primer orden: la tasa de proliferación (en gramos de bioma-

CUADRO 4-1 Ejemplo de un recuento viable

Dilución	Recuento bacteriano en placas[a]
Sin diluir	Demasiado llena para contar
10^{-1}	Demasiado llena para contar
10^{-2}	510
10^{-3}	72
10^{-4}	6
10^{-5}	1

[a] Cada recuento es el promedio de tres placas duplicadas.

sa producidos por hora) es el producto de la **constante de la tasa del proliferación**, *k*, y la concentración de la biomasa, *B:*

$$\frac{dB}{dt} = kB \qquad (1)$$

Al reconfigurar la ecuación (1) se observa que la constante de la tasa de proliferación es la velocidad a la que las células producen más células:

$$k = \frac{Bdt}{dB} \qquad (2)$$

Una constante de la tasa de proliferación de 4.3 h^{-1}, una de las mayores registradas, significa que cada gramo de células produce 4.3 g de células por hora durante este periodo de proliferación. Algunos microorganismos que crecen lentamente tienen una constante de la tasa de proliferación hasta de 0.02 h^{-1}. Con esta constante cada gramo de células en cultivo produce 0.02 g de células por hora.

Al integrar la ecuación (1) se obtiene:

$$\text{In}\frac{B_1}{B_0} = 2.3\log_{10}\frac{B_1}{B_0} = k(t_1 - t_0) \qquad (3)$$

El logaritmo natural es la relación entre B_1 (biomasa en el instante 1 [t_1]) y B_0 (biomasa en el instante cero [t_0] es igual al producto de la constante de proliferación (*k*) y la diferencia en el tiempo ($t_1 - t_0$). La ecuación de proliferación (3) se describe como exponencial puesto que la biomasa aumenta de manera exponencial con el tiempo. Es posible obtener gráficas lineales de proliferación exponencial trazando el logaritmo de la concentración de la biomasa (*B*) como función del tiempo (*t*).

Cálculo de la constante de proliferación y pronóstico de la magnitud del mismo

Muchas bacterias se reproducen por fisión binaria y el periodo necesario para que la población o la biomasa se duplique se conoce como **tiempo de generación** o **tiempo de duplicación** (t_d). Por lo general el t_d se establece trazando la magnitud de la proliferación en una escala semilogarítmica como función del tiempo; el tiempo necesario para que la biomasa se duplique es t_d (fig. 4-1). La constante de proliferación se calcula a partir del tiempo de duplicación sustituyendo el valor 2 por B_1/B_0 y t_d por $t_1 - t_0$ en la ecuación (3), obteniendo:

$$\text{In}2 = kt_d$$
$$k = \frac{\text{In}2}{t_d} \qquad (4)$$

Un tiempo rápido de duplicación corresponde a una constante elevada de proliferación. Por ejemplo, el tiempo de duplicación de 10 min (0.17 h) corresponde a una constante de proliferación de 4.1 h^{-1}. El tiempo de duplicación relativamente prolongado de 35 h corresponde a una constante de proliferación de 0.02 h^{-1}.

La constante de proliferación calculada se utiliza para medir la proliferación que ocurrirá durante un periodo específico o bien para calcular el tiempo necesario para una proliferación específica.

La proliferación en un periodo específico se predice con base en la reconfiguración siguiente de la ecuación (3):

$$\log_{10}\frac{B_1}{B_0} = \frac{k(t_1 - t_0)}{2.3} \qquad (5)$$

Por ejemplo, es posible establecer la magnitud de la proliferación que ocurriría si un cultivo con una constante de proliferación de 4.1 h^{-1} creciera exponencialmente durante 5 h:

$$\log_{10}\frac{B_1}{B_0} = \frac{4.1\text{h}^{-1} \times 5\text{h}}{2.3} \qquad (6)$$

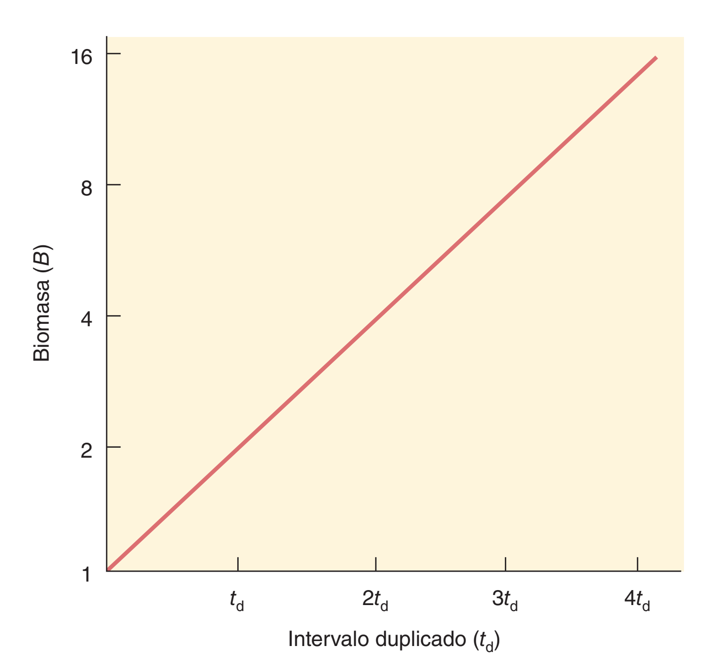


FIGURA 4-1 Proliferación exponencial. La biomasa (B) se duplica con cada intervalo duplicado (t_d).

En este ejemplo, el incremento de la biomasa es de 10^{-9}; una sola célula bacteriana con un peso seco de 2×10^{-13} g originaría 0.2 mg de biomasa, cantidad que poblaría densamente un cultivo de 5 ml. Ciertamente esta tasa de proliferación no se puede prolongar durante un periodo largo. Otras 5 h de proliferación a esta velocidad producirían 200 kg de peso seco de biomasa, o más o menos una tonelada de células.

Otra reconfiguración de la ecuación (3) permite calcular el tiempo necesario para que se lleve a cabo determinada magnitud de proliferación. En la ecuación (7), abajo, *N*, la concentración celular, es sustituida por *B*, la concentración de la biomasa, para poder calcular el intervalo necesario para que el número de células aumente de manera específica.

$$t_1 - t_0 = \frac{2.3 \log_{10}(N_1 / N_0)}{k} \qquad (7)$$

La ecuación (7) permite, por ejemplo, establecer el tiempo necesario para que un microorganismo de desarrollo lento con una constante de proliferación de 0.02 h^{-1} prolifere a partir de una sola célula hasta formar una suspensión celular ligeramente turbia con una concentración de 10^7 células por mililitro.

$$t_1 - t_0 = \frac{2.3 \times 7}{0.02 h^{-1}} \qquad (8)$$

La solución de la ecuación (8) revela que para esta magnitud de proliferación es necesario que transcurran alrededor de 800 h, un poco más de un mes. La supervivencia de los microorganismos de desarrollo lento significa que la carrera en la supervivencia biológica no siempre es rápida; las especies que prosperan son aquellas que compiten de manera satisfactoria por los nutrientes y evitan ser aniquiladas por los depredadores y otros peligros ambientales.

CURVA DE PROLIFERACIÓN

Cuando un volumen fijo de medio líquido es inoculado con células microbianas obtenidas a partir de un cultivo que fue colonizado hasta la saturación y se mide periódicamente el número de células viables por mililitro para obtener una gráfica, por lo general mostrará una curva similar a la de la figura 4-2; las etapas de la curva de proliferación bacteriana que se muestran reflejan los acontecimientos en una población de células, no en cada célula. Este tipo de cultivo se denomina **cultivo semicontinuo**. La curva típica de proliferación se puede describir en términos de cuatro etapas (cuadro 4-2).

Etapa latente

La etapa latente es el periodo durante el cual las células, ya sin metabolitos ni enzimas a causa del ambiente poco favorable al final de su historia previa en cultivo, se adaptan a su ambiente nuevo. Se forman y acumulan enzimas y sustancias intermedias hasta que su concentración es tal que permite la reanudación del desarrollo. Cuando las células se obtienen a partir de un medio completamente distinto, a menudo son genéticamente incapaces de crecer en el medio nuevo. En estos casos, la etapa latente es prolongada y representa el periodo necesario para que unas cuantas mutantes en el inóculo se multipliquen lo suficiente como para generar un aumento neto evidente en el número de células.

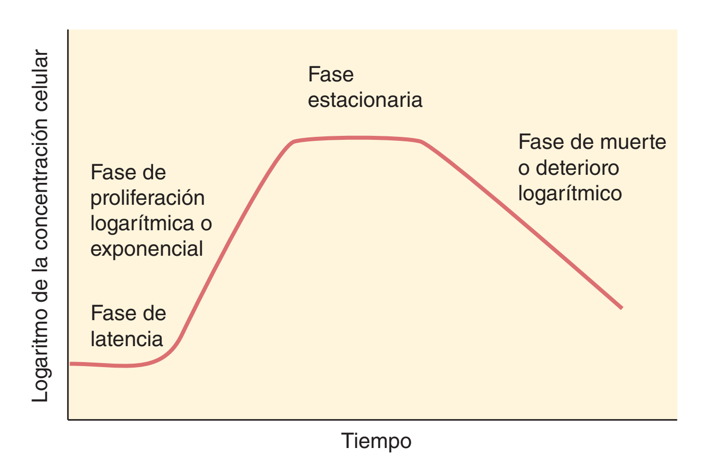


FIGURA 4-2 Curva de proliferación bacteriana.

Etapa exponencial

Durante la etapa exponencial, cuya matemática ya se describió, las células se encuentran en estado constante. Sintetizan material celular nuevo a una velocidad constante, pero este material nuevo es catalítico y la masa aumenta en forma exponencial. Esto persiste hasta que sucede una de dos cosas: se agota uno o más nutrientes en el medio o bien se acumulan productos metabólicos nocivos que inhiben la proliferación. Para los organismos aerobios, el nutriente que se limita es casi siempre oxígeno. Cuando la concentración de células excede alrededor de 1×10^7 por mililitro (en el caso de las bacterias), la velocidad de proliferación desciende a menos que se introduzca oxígeno por medio de agitación o introduciendo aire en forma de burbujas. Cuando la concentración bacteriana alcanza 4 a 5×10^9 por mililitro, la velocidad de difusión del oxígeno no puede satisfacer la demanda incluso en un medio ventilado, por lo que la tasa de proliferación disminuye de manera gradual.

Etapa estacionaria máxima

Finalmente, el agotamiento de nutrientes o la acumulación de productos nocivos provoca que la proliferación se detenga por

CUADRO 4-2 Fases de la curva de proliferación microbiana

Fase	Índice de proliferación
Latencia	Cero
Exponencial	Constante
Estacionaria máxima	Cero
Declinación	Negativa (muerte)

completo. Sin embargo, en la mayor parte de los casos, durante esta etapa se lleva a cabo un recambio celular: se pierden lentamente células que mueren pero esto se contrarresta por la formación de células nuevas a través de desarrollo y división. Cuando esto ocurre, la cuenta celular total aumenta lentamente aunque la cuenta viable permanece constante.

Etapa de declinación: etapa de muerte

Después de un tiempo en etapa estacionaria, que varía según el microorganismo y las circunstancias del cultivo, el índice de muerte se eleva hasta alcanzar un nivel estable. Más adelante se describe de manera matemática el nivel estable de la muerte celular. En la mayor parte de los casos, la tasa de muerte celular es mucho más lenta que la de proliferación exponencial. Con frecuencia, una vez que muere la mayor parte de las células, la tasa disminuye en forma espectacular, de manera que persiste un pequeño número de supervivientes durante varios meses o incluso años. Tal persistencia en ocasiones refleja el recambio celular, que corresponde al desarrollo de unas cuantas células a expensas de los nutrientes que son liberados a partir de las células que mueren y sufren lisis.

Se cree que el fenómeno en las células, llamado **viable pero no cultivable** (VBNC, *viable but not culturable*), es resultado de una respuesta genética desencadenada en las células que padecen inanición y se encuentran en etapa estacionaria. Así como algunas bacterias forman esporas como mecanismo de supervivencia, otras pasan a un estado latente sin sufrir cambios en su morfología. Una vez que las rodean las circunstancias adecuadas (p. ej., su paso a través de un animal), los microbios viables pero no cultivables vuelven a desarrollarse.

MANTENIMIENTO DE LAS CÉLULAS EN ETAPA EXPONENCIAL

Es posible mantener a las células en etapa exponencial transfiriéndolas en repetidas ocasiones a un medio fresco de una composición idéntica mientras aún se desarrollan en forma exponencial. Esto se denomina **cultivo continuo**; el tipo de dispositivo más frecuente para el cultivo continuo es el quimiostato.

Quimiostato

Este dispositivo está compuesto por un contenedor para cultivo equipado con un rebosadero con sifón y un mecanismo para destilar medio fresco a partir de un reservorio a una velocidad regulada. El medio en el contenedor del cultivo se agita a través de un chorro de aire estéril; cada gota de medio fresco que entra provoca la salida de una gota de cultivo a través del sifón.

El medio se prepara de manera que un nutriente limite la tasa de proliferación. El contenedor es inoculado y las células se desarrollan hasta que el nutriente limitante se agota; luego se permite que el medio fresco del contenedor fluya a una velocidad tal que las células utilicen el nutriente limitante con la misma rapidez con la que se suministra. En tales circunstancias, la concentración celular permanece constante y la tasa de proliferación es directamente proporcional a la velocidad con que fluye el medio.

DEFINICIÓN Y VALORACIÓN DE LA MUERTE

Importancia de la muerte

Para una célula microbiana, la muerte significa la pérdida irreversible de su potencial reproductivo (desarrollo y división). La prueba empírica de la muerte es el cultivo de las células en un medio sólido: una célula se considera muerta cuando no genera una colonia en ningún medio. Evidentemente, la confiabilidad de la prueba depende del medio elegido y las circunstancias: un cultivo en el que 99% de las células parece estar “muerta” en términos de su potencial para formar colonias en un medio, quizá será 100% viable si se coloca en otro medio. Además, en algunos casos no es posible detectar unas cuantas células viables en una muestra clínica grande bañando directamente una muestra, puesto que en ocasiones el líquido mismo inhibe el desarrollo microbiano. En tales casos, la muestra deberá diluirse antes en medio líquido para permitir el desarrollo de las células viables antes de cultivarlas.

Las condiciones de la incubación durante la primera hora después del tratamiento también son fundamentales para establecer la “muerte”. Por ejemplo, si las células bacterianas son radiadas con luz ultravioleta y cultivadas con cualquier medio, aparentemente habrá muerto 99.99%. Pero si estas células radiadas primero son incubadas en un amortiguador adecuado durante 20 min, al cultivarlas se observará la muerte de sólo 10%. En otras palabras, la radiación establece que una célula “morirá” si se cultiva inmediatamente, pero vivirá si se le permite la reparación de la radiación antes de cultivarla.

De esta manera, la célula microbiana que no ha sufrido alteraciones físicas está “muerta” sólo en los términos de las condiciones utilizadas para comprobar la viabilidad.

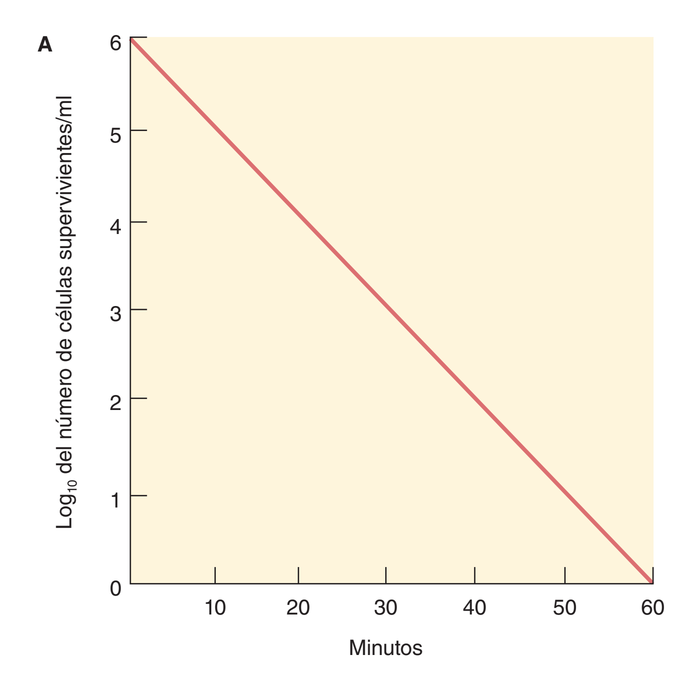
Valoración de la muerte

Al manipular microorganismos, no se acostumbra valorar la muerte de una sola célula, sino la muerte de una población. Este es un problema estadístico: en cualquier circunstancia que pueda provocar la muerte celular, la probabilidad de que cualquier célula muera es constante por unidad de tiempo. Por ejemplo, si se utiliza alguna condición que provoque la muerte de 90% de las células en los primeros 10 min, la probabilidad de que cualquiera de las células muera en un intervalo de 10 min es de 0.9. Por lo tanto, es de esperarse que 90% de las células que sobrevive morirá en cada intervalo sucesivo de 10 min y se obtendrá una curva de muerte similar a la que se muestra en la figura 4-3.

El número de células que muere en cada intervalo es, por lo tanto, función del número de las supervivientes, de manera que la muerte de una población procede de manera exponencial de acuerdo con la fórmula general

$$S = S_0 e^{-kt} \tag{9}$$

donde S_0 es el número de supervivientes en el instante cero y S es el número de supervivientes en cualquier instante t posterior. Al igual que en el caso de la proliferación exponencial, $-k$ representa la velocidad de la muerte exponencial cuando se representa en una gráfica la fracción ln (S/S_0) contra el tiempo.



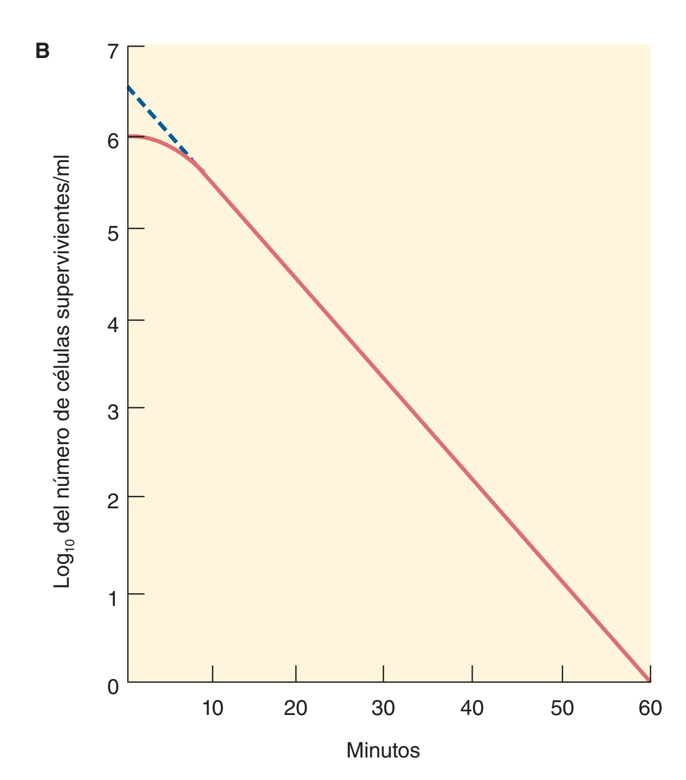


FIGURA 4-3 Curva de muerte de una suspensión de 10^6 microorganismos viables por mililitro. **A:** Curva de un solo encuentro. **B:** Curva de varios encuentros. La porción recta se extrapola a 6.5, lo que corresponde a 4×10^6 células. Por lo tanto, el número de objetivos es de 4×10^6, o cuatro por célula.

La curva de un solo encuentro que se muestra en la figura 4-3A es típica de la cinética de desactivación que se observa con muchos antimicrobianos. El hecho de que sea una línea recta desde el instante cero (dosis cero), en lugar de mostrar un canto inicial, significa que basta un solo "encuentro" con la sustancia desactivadora para matar a la célula; esto es, para desactivar a toda la célula es necesario dañar a un solo objetivo. Este objetivo puede ser el cromosoma de una bacteria uninucleada o la membrana celular; por el contrario, no puede ser una enzima ni otro componente celular existente en copias múltiples.

La célula que contiene varias copias del objetivo que será desactivado exhibe una curva de encuentros múltiples como la que se muestra en la figura 4-3B. Al extrapolar la porción recta de la curva a las ordenadas es posible calcular el número de objetivos (p. ej., 4 en la figura 4-3B).

Esterilización

En la práctica, se habla de "esterilización" como el proceso de aniquilar todos los microorganismos en una preparación. Sin embargo, si se toman en cuenta las consideraciones anteriores, se verá que no existe ningún grupo de circunstancias que garantice la esterilización de una preparación. Por ejemplo, se examina la figura 4-3. A los 60 min, queda un microorganismo (10^0) por mililitro. A los 70 min habría 10^{-1}, a los 80 min 10^{-2}, etc. Al hablar de 10^{-2} microorganismos por mililitro significa que en un volumen total de 100 ml, sólo sobrevive un microorganismo. Por lo tanto, ¿cuánto tarda la esterilización del cultivo? Lo que se puede decir es que después de determinado periodo de tratamiento, la probabilidad de que persistan microorganismos viables en 1 ml es la que se observa en la curva de la figura 4-3. Después de 2 h, en el ejemplo anterior, la probabilidad es de 1×10^{-6}. Esto podría considerarse una esterilización segura, pero un lote de 1 000-L aún podría contener un microorganismo viable.

Nótese que estos cálculos dependen de que las curvas permanezcan sin cambios en la pendiente a lo largo de todo el tiempo. Por desgracia, es muy frecuente que la curva se incline hacia arriba después de un periodo, puesto que la sensibilidad de la población a la sustancia desactivadora es heterogénea. Es peligroso hacer extrapolaciones, porque se pueden obtener errores como los que surgieron durante las primeras preparaciones de la vacuna estéril contra la polio.

Efecto de la concentración farmacológica

Cuando se utilizan sustancias antimicrobianas (fármacos) para desactivar a las células microbianas, a menudo se observa que la concentración del fármaco utilizado es directamente proporcional al intervalo necesario para aniquilar a determinada fracción de la población por medio de la expresión siguiente:

$$C^n t = K \qquad (10)$$

En esta ecuación, C es la concentración del fármaco, t es el intervalo necesario para aniquilar determinada fracción de células y n y K son constantes.

Dicha expresión dice que, por ejemplo, si $n = 6$ (como sucede para el fenol), al duplicar la concentración del fármaco disminuye el intervalo necesario para lograr el mismo grado de desactivación 64 veces. El hecho de que la eficacia de un fármaco varíe con una concentración a la sexta potencia indica que se necesiten seis moléculas del fármaco para desactivar a una célula, aunque no existe evidencia química directa para llegar a esta conclusión.

Con el fin de establecer el valor de n para cualquier fármaco, se obtienen curvas de desactivación para varias concentraciones y se mide el intervalo necesario para que cada concentración desactive a una fracción fija de la población. Por ejemplo, piénsese que la primera concentración es C_1 y que el intervalo necesario para desactivar a 99% de las células es t_1. De igual forma, considerar que C_2 y t_2 corresponden a la segunda concentración y el intervalo necesario para desactivar a 99% de las células. Con base en la ecuación (10), se observa que

$$C_1^n\ t_1 = C_2^n\ t_2 \tag{11}$$

La fórmula de n es

$$n = \frac{\log t_2 - \log t_1}{\log C_1 - \log C_2} \tag{12}$$

Por lo tanto, n se establece midiendo la pendiente de la línea que se forma cuando log t se representa en la gráfica contra log C (figura 4-4). Si n se determina de manera experimental de esta forma, K se puede precisar sustituyendo los valores observados de C, t y n en la ecuación 10.

ANTIMICROBIANOS

Definiciones

Los términos siguientes se utilizan a menudo en relación con los antimicrobianos y sus aplicaciones.

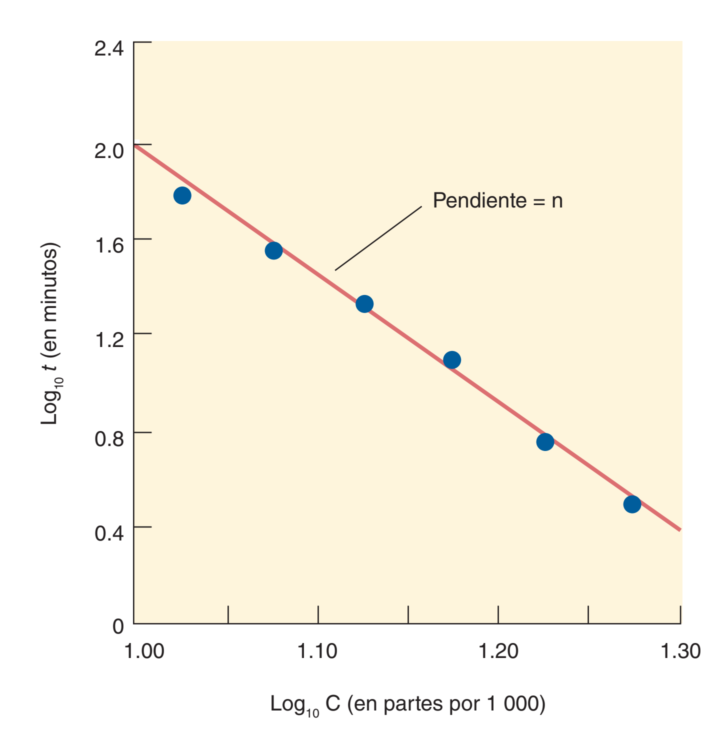


FIGURA 4-4 Relación entre la concentración del fármaco y el intervalo requerido para aniquilar a determinada fracción de una población celular.

A. Biocida

Sustancia química o física, por lo general de amplio espectro, que desactiva microorganismos (cuadro 4-3). Dos biocidas químicos son el peróxido de hidrógeno y los fenoles y dos biocidas físicos son el calor y las radiaciones. Por lo general los biocidas son de amplio espectro, a diferencia de los antiinfecciosos, que poseen una actividad antimicrobiana menor.

B. Bacteriostático

Término específico que se refiere a la propiedad por medio de la cual un biocida puede inhibir la multiplicación bacteriana; la multiplicación se reanuda una vez que se elimina la sustancia. (Los términos “fungistático” y “esporostático” se refieren a los biocidas que inhiben la proliferación de los hongos y esporas, respectivamente.)

C. Bactericida

Término específico que se refiere a la propiedad por medio de la cual un biocida aniquila bacterias. La acción bactericida difiere de la bacteriostática sólo en el sentido de que es irreversible; esto es, los organismos “aniquilados” ya no se pueden reproducir, aunque se retiren del contacto con la sustancia. En ciertos casos, la sustancia provoca lisis (disolución) de las células; en otros, la célula permanece intacta y en ocasiones incluso con actividad metabólica. (Los términos “fungicida”, “esporicida” y “virucida” se refieren a la propiedad por medio de la cual los biocidas aniquilan hongos, esporas y virus, respectivamente.)

D. Esterilización

Técnica utilizada para eliminar los organismos viables de una superficie o producto, incluidas las esporas bacterianas.

E. Desinfectantes

Productos o biocidas utilizados para reducir el número de miocroorganismos viables o carga biológica, en un producto o superficie hasta obtener una concentración que se considera adecuada para su uso o aplicación ulterior. Los desinfectantes no son necesariamente esporicidas, pero son esporostáticos, o sea que inhiben la germinación o la proliferación.

F. Séptico

Caracterizado por la presencia de microbios patógenos en tejidos vivos.

G. Antiséptico

Biocida o producto que destruye o inhibe el desarrollo de los microorganismos en un tejido vivo (p. ej., la piel).

H. Aséptico

Libre de microorganismos o utilizando métodos para permanecer sin microorganismos.

I. Preservación

Prevención de la multiplicación de los microorganismos en productos preparados, incluidos fármacos y alimentos.

CUADRO 4-3 Algunos biocidas utilizados con frecuencia para antisepsia, desinfección, preservación y otros fines

Sustancia	Fórmula	Aplicaciones
Ácidos orgánicos		
Ácido benzoico	COOH	Preservación
Ácido propiónico	CH_3-CH_2-COOH	Sal de calcio o sodio utilizada como conservador
Alcoholes		
Etanol	CH_3-CHOH	Antiséptico, desinfectante, conservador
Isopropanol	CH_3, CH_3 CHOH	
Aldehídos		
Glutaraldehído	H H; $O=CCH_2CH_2CH_2C=O$	Desinfección, esterilización, preservación
Formaldehído	H, H $C=O$	
Biguanidas		
Clorhexidina	Cl — $N(HCN)_2H(CH_2)_6N(HCN)_2H$ — Cl; NH NH	Antiséptico, actividad antiplaca, preservación, desinfectante
Bisfenoles		
Triclosán	Cl OH; Cl — O — Cl	Antiséptico, actividad antiplaca
Hexaclorofeno	OH OH; Cl CH_2 Cl; Cl Cl; Cl Cl	Desodorante, preservación
Compuestos de amonio cuaternario	$[R^1 R^3 N R^2 R^4]^+ X^-$	Desinfectante, antiséptico, preservación
Cetrimida	$[H_3C\ CH_3\ N\ H_3C\ C_0H_{2n+1}]^+ Br^-$	Desinfectante, antiséptico, preservación
Cloruro de benzalconio	$[CH_2\ CH_3\ N\ H_3C\ C_0H_{2n+1}]^+ Cl^-$	
Derivados de metales pesados		
Compuestos de plata	Ag	Preservación, antiséptico
Compuestos de mercurio	Hg	Desinfectante

(*continúa*)

CUADRO 4-3 Algunos biocidas utilizados con frecuencia para antisepsia, desinfección, preservación y otros fines (*Continuación*)

Sustancia	Fórmula	Aplicaciones
Fase de vapor		
Óxido de etileno	$H_2C - CH_2$ con puente O (epóxido)	Esterilización, desinfectante
Formaldehído	$H-C(H)=O$	
Peróxido de hidrógeno	H_2O_2	
Fenoles y cresoles		
Fenol	OH (anillo bencénico)	Desinfectante, preservación
Cresol	OH (anillo bencénico), CH_3	
Peroxígenos		
Peróxido de hidrógeno	H_2O_2	Desinfectante, esterilización
Ozono	O_3	
Ácido peracético	CH_3COOOH	
Sustancias liberadoras de halógenos		
Compuestos clorados	$\rightarrow$ OCl-, HOCl, Cl_2	Desinfectante, antiséptico
Compuestos de yodo	$\rightarrow I_2$	

J. Antibióticos

Son compuestos orgánicos naturales o sintéticos que inhiben o destruyen ciertas bacterias, por lo general a una concentración reducida.

Modos de acción

A. Daño al DNA

Diversas sustancias tanto físicas como químicas actúan dañando al DNA; éstas comprenden a las radiaciones ionizantes, luz ultravioleta y sustancias químicas que reaccionan con el DNA. Esta última categoría comprende a las sustancias alquilantes y otros compuestos que reaccionan de manera covalente con las bases purina y pirimidina para formar aductos de DNA o enlaces cruzados entre tiras. Las radiaciones lesionan al DNA de diversas formas: la luz ultravioleta, por ejemplo, induce enlaces cruzados entre pirimidinas adyacentes en alguna de las dos tiras de polinucleótidos, formando dímeros de pirimidina; las radiaciones ionizantes rompen las tiras únicas y dobles. Las lesiones del DNA por radiaciones o sustancias químicas aniquilan a la célula principalmente al interferir con la multiplicación del DNA. Véase el capítulo 7 para una descripción más detallada sobre los sistemas de reparación del DNA.

B. Desnaturalización de proteínas

Las proteínas existen en un estado plegado tridimensional que depende de enlaces disulfuro covalentes intramoleculares y de varios enlaces no covalentes como puentes iónicos, hidrófobos y de hidrógeno. Este estado se denomina estructura terciaria de la proteína; se desorganiza fácilmente con diversas sustancias físicas o químicas y la proteína deja de funcionar. La desorganización de la estructura terciaria de una proteína se denomina desnaturalización.

C. Desorganización de la membrana o pared celular

La membrana celular actúa como barrera selectiva, puesto que permite el paso de algunos solutos y excluye el de otros. Muchos compuestos se transportan de manera activa a través de la membrana, con lo que se concentran dentro de la pared. La membrana también contiene a las enzimas que participan en la biosíntesis de los componentes de la cubierta celular. Las sustancias que se concentran en la superficie celular modifican las propiedades físicas y químicas de la membrana, evitando sus funciones normales y por lo tanto aniquilando o inhibiendo a la célula.

La pared celular actúa como estructura constrictiva, protegiendo a la célula de la lisis osmótica. Por lo tanto, las sustancias que destruyen la pared (p. ej., lisozimas) o evitan su síntesis normal (p. ej., penicilina) provocan la lisis celular.

D. Sustracción de los grupos sulfhidrilo libres

Las proteínas enzimáticas que contienen cisteína poseen cadenas laterales que terminan en grupos sulfhidrilo. Además, las coenzimas como la coenzima A y el dihidrolipoato contienen grupos sulfhidrilo libres. Tales enzimas y coenzimas no pueden funcionar a menos que los grupos sulfhidrilo permanezcan libres y reducidos. De esta manera, las sustancias oxidantes interfieren con el metabolismo al formar enlaces disulfuro entre grupos sulfhidrilo vecinos:

$$R-SH + HS-R \xrightarrow{-2H} R-S-S-R$$

Muchos metales como el ion mercúrico interfieren de la misma manera al combinarse con los sulfhidrilos.

$$\begin{matrix} R-SH \\ R-SH \end{matrix} + \begin{matrix} Cl \\ Hg \\ Cl \end{matrix} \longrightarrow \begin{matrix} R-S \\ R-S \end{matrix} \rangle Hg + 2HCl$$

La célula contiene numerosas enzimas con sulfhidrilo; por lo tanto, los oxidantes y metales pesados dañan extensamente a la célula.

E. Antagonismo químico

La interferencia de una sustancia química con la reacción normal entre cierta enzima y su sustrato se conoce como "antagonismo químico". El antagonista actúa combinándose con una parte de la holoenzima (ya sea la apoenzima proteínica, el activador mineral o la coenzima), evitando de esa manera unión con el sustrato normal. (El término "sustrato" se utiliza aquí en el sentido amplio y abarca los casos en los que el inhibidor se combina con la apoenzima, evitando su unión con la coenzima.)

El antagonista se combina con una enzima por su afinidad química por un sitio esencial en esa enzima. Las enzimas llevan a cabo su función catalítica gracias a su afinidad por sus sustratos naturales; de ahí que cualquier compuesto que se asemeja desde el punto de vista estructural a un sustrato en los aspectos esenciales también tendrá afinidad por la enzima. Cuando esta afinidad es lo suficientemente grande, el "análogo" desplazará al sustrato normal impidiendo la reacción adecuada.

Muchas holoenzimas comprenden un ion mineral como puente ya sea entre la enzima y la coenzima o entre la enzima y el sustrato. Las sustancias químicas que se combinan fácilmente con estos minerales evitan de nuevo la unión entre la coenzima y el sustrato; por ejemplo, el monóxido de carbono y el cianuro se combinan con el átomo de hierro en las enzimas que contienen hem, impidiendo su función en la respiración.

Los antagonistas químicos se pueden describir bajo dos títulos: antagonistas de los procesos que liberan energía y antagonistas de los procesos biosintéticos. Los primeros comprenden a los venenos de las enzimas respiratorias (monóxido de carbono, cianuro) y de la fosforilación oxidativa (dinitrofenol); los últimos comprenden a los análogos de los bloques de construcción de las proteínas (aminoácidos) y de los ácidos nucleicos (nucleótidos). En algunos casos, el análogo sencillamente evita la incorporación del metabolito normal (p. ej., el 5-metiltriptófano evita la incorporación del triptófano en la proteína) y en otros casos el análogo sustituye al metabolito normal en la macromolécula, impidiendo su función. Un ejemplo de este último tipo de antagonismo es la incorporación de *p*-fluorofenilalanina en lugar de fenilalanina en las proteínas.

Inversión de la acción antibacteriana

En la sección sobre definiciones, se insistió en que la acción bacteriostática es, por definición, reversible. Esta acción se puede invertir de varias formas.

A. Eliminación del fármaco

Cuando las células que son inhibidas por la presencia de un bacteriostático se eliminan por medio de centrifugación, se lavan en la centrífuga y se suspenden de nuevo en un medio de desarrollo fresco; reanudarán su multiplicación normal.

B. Inversión por sustrato

Cuando un antagonista químico de tipo análogo se une de manera reversible con la enzima, es posible desplazarla agregando una concentración elevada del sustrato normal. Estos casos se denominan "inhibición competitiva". La proporción entre la concentración del inhibidor y la concentración del sustrato que invierte la inhibición se denomina **índice antimicrobiano**; por lo general es muy elevado (100 a 10 000), lo que indica una afinidad mucho mayor de la enzima por su sustrato normal.

C. Desactivación del fármaco

A menudo es posible desactivar al fármaco agregando al medio una sustancia que se combine con éste, impidiendo su combinación con los componentes celulares. Por ejemplo, el ion mercúrico se desactiva agregando al medio compuestos de sulfhidrilo como ácido tioglicólico.

D. Protección contra la lisis

Es posible prevenir la lisis osmótica transformando al medio en un elemento isotónico para los protoplastos bacterianos desnudos. Se necesita una concentración de sacarosa de 10 a 20%. En estas circunstancias, los protoplastos inducidos por penicilina permanecen viables y siguen proliferando como formas L.

Resistencia a los antibacterianos

Un factor importante para regular a las bacterias es su potencial para adquirir resistencia contra los antimicrobianos. Los mecanismos por medio de los cuales adquieren resistencia se describen en los capítulos 7: Genética microbiana y 28: Quimioterapia antimicrobiana.

Elementos físicos

A. Calor

La aplicación de calor constituye el método más sencillo para esterilizar materiales, siempre y cuando el material mismo sea resistente al daño por calor. Una temperatura de 100°C aniquila a todos los tipos de bacterias con excepción de las esporas en un lapso de 2 a 3 min en cultivos de laboratorio; para aniquilar esporas se utiliza una temperatura de 121°C durante 15 min. Por lo general se utiliza vapor por dos razones: las bacterias mueren más rápidamente con la humedad y el vapor ofrece un medio para distribuir el calor a todos los sitios del recipiente donde se lleva a cabo la esterilización. A nivel del mar, el vapor se debe mantener a una presión de 15 libras/pulgada^2 (psi) por arriba de la presión atmosférica para obtener una temperatura de 121°C; para este fin se utilizan autoclaves u ollas de presión. A una mayor altura, la presión debe ser mayor de 15 psi para alcanzar 121°C. Para que los materiales estériles permanezcan secos, existen hornos eléctricos en los que circula aire caliente;

como el calor es menos eficaz en materiales secos, se acostumbra aplicar una temperatura de 160 a 170°C durante 1 h o más.

En las condiciones antes descritas (p. ej., temperatura excesiva aplicada por periodos prolongados), el calor actúa desnaturalizando las proteínas celulares y los ácidos nucleicos y desorganizando las membranas celulares.

B. Radiación

La luz ultravioleta y las radiaciones ionizantes tienen diversas aplicaciones como esterilizadores. Sus mecanismos de acción se describen antes.

Sustancias químicas

Las estructuras químicas de aplicaciones de los biocidas se muestran en el cuadro 4-3.

A. Alcoholes

El alcohol etílico, alcohol isopropílico y el *n*-propanol exhiben una actividad antimicrobiana rápida de amplio espectro contra las bacterias vegetativas, virus y hongos, pero no son esporicidas. Su actividad es mejor cuando se diluyen a una concentración de 60 a 90% con agua.

B. Aldehídos

El glutaraldehído se utiliza para la desinfección y esterilización a una temperatura reducida de los endoscopios y equipo quirúrgico. Normalmente se emplea en solución al 2% para lograr actividad esporicida. El formaldehído es bactericida, esporicida y virucida.

C. Biguanidas

La clorhexidina se utiliza ampliamente en el lavado de manos y en productos bucales como desinfectante y conservador. Las micobacterias son muy resistentes.

D. Bisfenoles

Los bisfenoles se utilizan ampliamente en jabones antisépticos y enjuagues de manos. En general, son de amplio espectro pero tienen poca actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* y mohos. El triclosán y el hexaclorofeno son bactericidas y esporostáticos.

E. Sustancias liberadoras de halógeno

Las principales sustancias liberadoras de cloro son hipoclorito de sodio, dióxido de cloro y dicloroisocianurato de sodio, que son oxidantes que destruyen la actividad celular de las proteínas. El ácido hipocloroso es el componente activo encargado del efecto bactericida y virucida de estos compuestos. A una concentración más elevada, tales compuestos son esporicidas. El yodo es rápidamente bactericida, fungicida, tuberuculicida, virucida y esporicida. Los yodóforos (p. ej., yodopovidona) son compuestos de yodo y alguna sustancia solubilizadora o transportadora, que actúa como reservorio para el I_2 activo.

F. Derivados de los metales pesados

La sulfadiazina de plata, combinación de dos antibacterianos, Ag^+ y sulfadiazina, posee actividad de amplio espectro. Probablemente sus propiedades inhibidoras son secundarias a su unión a los componentes celulares como el DNA.

G. Ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos se usan como conservadores en las industrias tanto farmacéutica como alimentaria. El ácido benzoico es fungistático; el ácido propiónico es bacteriostático y fungistático.

H. Peroxígenos

El peróxido de hidrógeno posee actividad de amplio espectro contra virus, bacterias, levaduras y esporas bacterianas. Su actividad esporicida requiere de concentraciones más elevadas (10 a 30%) de H_2O_2 y un periodo de contacto más prolongado.

I. Fenoles

El fenol y muchos compuestos fenólicos tienen propiedades antisépticas, desinfectantes o conservadoras.

J. Compuestos de amonio cuaternario

Estos compuestos tienen dos regiones en su estructura molecular, un grupo repelente al agua (hidrófobo) y otro grupo que atrae agua (hidrófilo). Los detergentes catiónicos, ejemplificados por los compuestos de amonio cuaternario (QAC, *quaternary ammonium compounds*) son antisépticos y desinfectantes útiles. Los QAC se han utilizado para diversos fines clínicos (p. ej., desinfección preoperatoria de la piel íntegra) y para limpiar superficies duras. Son esporostáticos; inhiben la proliferación de las esporas pero no el proceso de germinación. Los QAC también son micobacteriostáticos y actúan sobre los virus con cubierta de lípidos pero no en los que carecen de esta cubierta.

K. Esterilizadores en fase de vapor

Los aparatos médicos sensibles al calor e instrumentos quirúrgicos se esterilizan con sistemas de fase de vapor que utilizan óxido de etileno, formaldehído, peróxido de hidrógeno o ácido peracético.

Sustancias quimioterapéuticas

La naturaleza y mecanismo de acción de estos fármacos se revisan en el capítulo 28.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. A una mujer de 23 años de edad se le inoculan 10 *Escherichia coli* en la vejiga durante una relación sexual. Estas *Escherichia coli* tienen un intervalo de generación de 20 min. Después de un retraso de 20 min, *Escherichia coli* entra en la fase logarítmica de proliferación. Después de 3 h de proliferación logarítmica, el número total de células es de:
   (A) 2 560
   (B) 5 012

(C) 90
(D) 1 028
(E) 1 000 000

2. Una mujer de 73 años de edad es hospitalizada para recibir tratamiento intravenoso de un absceso por *Staphylococcus aureus*. Después de su tratamiento y baja hospitalaria, es necesario desinfectar la habitación. Mil de las células de *Staphylococcus aureus* se exponen a un desinfectante. Después de 10 min, se ha aniquilado 90% de estas células. ¿Cuántas células quedan viables luego de 20 min?
   (A) 500
   (B) 100
   (C) 10
   (D) 1
   (E) 0
3. De las siguientes sustancias o procesos, ¿qué acción sobre las bacterias se puede invertir?
   (A) Desinfectante
   (B) Bactericida
   (C) Bacteriostático
   (D) Autoclave a 121°C durante 15 min
   (E) Calor seco a 160 a 170°C durante 1 h
4. La tasa de proliferación de las bacterias durante la etapa exponencial es de:
   (A) Cero
   (B) Ascendente
   (C) Constante
   (D) Descendente
   (E) Negativo
5. El ritmo de proliferación de las bacterias durante la etapa estacionaria máxima de proliferación es:
   (A) Cero
   (B) Ascendente
   (C) Constante
   (D) Descendente
   (E) Negativo

Respuestas

1. A 3. C 5. A
2. C 4. C

BIBLIOGRAFÍA

Block SS (editor): *Disinfection, Sterilization, and Preservation,* 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Colwell RR, Grimes DJ (editors): *Nonculturable Microorganisms in the Environment*. ASM Press, 2000.

Donohue WD: Th e cell cycle of *Escherichia coli*. Annu Rev Microbiol 1993;47:199.

Gerhardt P et al (editors): *Manual of Methods for General Bacteriology*. American Society for Microbiology, 1981.

Kjelleberg S (editor): *Starvation in Bacteria*. Plenum Press, 1993.

Kjelleberg S et al: The transient phase between growth and nongrowth of heterotrophic bacteria. Annu Rev Microbiol 1987;41:25. [PMID: 3318670]

Kolter R, Siegels DA, Tormo A: The stationary phase of the bacterial life cycle. J Bacteriol 1992;174:345. [PMID: 1729229]

McDonnell GE: *Antisepsis, Disinfection, and Sterilization: Types, Action, and Resistance*. ASM Press, 2007.

McDonnell G, Russell AD: Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. Clin Microbiol Rev 1999;12:147. [PMID: 9880479]

Olmstad RN (editor): *APIC Infection Control and Applied Epidemiology: Principles and Practices*. Mosby Year Book, 1996.

Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ (editors): *Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization*, 3rd ed. Blackwell Scientific Publications, 1999.

Sancar A, Sancar GB: DNA repair enzymes. Annu Rev Biochem 1988;57:29. [PMID: 3052275]

Siegels DA, Kolter R: Life after log. J Bacteriol 1992;174:345.



CAPÍTULO

5 Cultivo de microorganismos

El cultivo es el proceso de proliferación de microorganismos al proporcionarles un entorno con condiciones apropiadas. Los microorganismos en proliferación producen réplicas de sí mismos y necesitan los elementos presentes en su composición química. Los nutrientes deben proporcionar estos elementos en una forma que sea accesible desde el punto de vista metabólico. Además, los microorganismos requieren energía metabólica para sintetizar macromoléculas y mantener gradientes químicos esenciales a través de sus membranas. Los factores que deben controlarse durante la proliferación incluyen nutrientes, pH, temperatura, aireación, concentración de sales y fuerza iónica del medio.

NECESIDADES PARA EL CRECIMIENTO

La mayor parte del peso seco de los microorganismos es materia orgánica que contiene elementos como carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre. Además, se necesitan iones inorgánicos como potasio, sodio, hierro, magnesio, calcio y cloruro para facilitar los procesos enzimáticos y mantener los gradientes químicos a través de la membrana celular.

En su mayor parte, la materia orgánica consiste en macromoléculas formadas por **enlaces anhidro** entre los bloques de construcción. La síntesis de enlaces anhidro requiere energía química, que es proporcionada por dos enlaces fosfodiéster contenidos en el trifosfato de adenosina (ATP, cap. 6). La energía adicional necesaria para mantener la composición citoplásmica relativamente constante durante la proliferación se deriva de la **fuerza motriz protónica**, que consiste en energía potencial que puede derivarse del paso de protones a través de una membrana. En células eucariotas la membrana puede ser parte de las mitocondrias o de los cloroplastos. En células procariotas la membrana corresponde a la membrana citoplásmica de la célula.

La fuerza motriz protónica es un gradiente electroquímico con dos componentes: una diferencia en pH (concentración de iones hidrógeno) y diferencia en la carga e iónica. La carga en el exterior de la membrana bacteriana es más positiva que en el interior, y la diferencia en las cargas contribuye a la liberación de energía libre cuando un protón entra al citoplasma desde fuera de la membrana. El proceso metabólico que genera la fuerza motriz protónica se revisa en el capítulo 6. La energía libre puede utilizarse para el desplazamiento de la célula, para mantener los gradientes iónicos o moleculares a través de la membrana, para sintetizar enlaces anhidro en el ATP o para diversos propósitos combinados. Asimismo, la célula puede utilizar una fuente de ATP con sus enlaces anhidro de energía para crear una fuerza motriz protónica que a su vez puede utilizarse para desplazar la célula y conservar los gradientes químicos.

Para su desarrollo, un microorganismo requiere todos los elementos en su materia orgánica y cantidades adecuadas de iones para la producción de energía y reacciones catalíticas. Además, debe haber una fuente de energía para establecer la fuerza motriz protónica y permitir la síntesis de macromoléculas. Los microorganismos varían ampliamente en sus demandas nutricionales y sus fuentes de energía metabólica.

FUENTES DE ENERGÍA METABÓLICA

Los tres mecanismos principales para la generación de energía metabólica son fermentación, respiración y fotosíntesis. Para el desarrollo del microorganismo debe utilizarse al menos uno de estos mecanismos.

Fermentación

La transformación de ATP en la fermentación no se acopla con la transferencia de electrones. La fermentación se caracteriza por la **fosforilación del sustrato**, un proceso enzimático en el cual los enlaces de pirofosfato se donan directamente al trifosfato de adenosina (ATP) por un intermediario metabólico fosforilado. El intermediario fosforilado se forma por procesos metabólicos de sustrato susceptibles de fermentación como la glucosa, lactosa o arginina. La fermentación no se acompaña de cambios en el estado general de oxidación-reducción del sustrato fermentable y por tanto la composición elemental de los productos de fermentación debe ser idéntica a la de los sustratos. Por ejemplo, la fermentación de una molécula de glucosa ($C_6H_{12}O_6$) por la vía de Embden-Meyerhof (cap. 6) produce una ganancia neta de dos enlaces de pirofosfato en el ATP y produce dos moléculas de ácido láctico ($C_3H_6O_3$).

Respiración

La respiración es análoga a los procesos de acoplamiento dependientes de energía para descargar una batería. La reducción

química de un oxidante (aceptor de electrones) a través de una serie específica de transportadores de electrones en la membrana establece la fuerza motriz protónica a través de la membrana bacteriana. El reductor (donador de electrones) puede ser un compuesto orgánico o inorgánico: por ejemplo, el ácido láctico actúa como reductor en algunos microorganismos, en tanto que el gas hidrógeno es reductor para otros. A menudo se utiliza oxígeno gaseoso (O_2) como oxidante, pero algunos microorganismos pueden utilizar oxidantes alternativos como dióxido de carbono (CO_2), sulfato (SO_4^{2-}) y nitrato (NO_3^-).

Fotosíntesis

La fotosíntesis es similar a la respiración en el sentido de que la reducción de un oxidante a través de una serie específica de transportadores de electrones establece una fuerza motriz protónica. La diferencia en los dos procesos consiste en que en la fotosíntesis se crean el reductor y el oxidante por medios fotoquímicos por medio de energía luminosa absorbida por los pigmentos en la membrana; así, la fotosíntesis continúa en tanto exista una fuente de energía luminosa. Las plantas y algunas bacterias son capaces de invertir cantidades sustanciales de energía luminosa para hacer del agua un reductor para el dióxido de carbono. El oxígeno participa en este proceso y se produce materia orgánica. La respiración, la oxidación favorable desde el punto de vista energético de la materia orgánica por un aceptor de electrones como el oxígeno puede proporcionar a los microorganismos con capacidad de fotosíntesis energía en ausencia de una fuente luminosa.

NUTRICIÓN

La nutrición en medios de cultivo debe contener todos los elementos necesarios para la síntesis biológica de un nuevo microorganismo. En la siguiente revisión, los nutrientes se clasifican con base en los elementos que proporcionan.

Fuentes de carbono

Como se mencionó antes, las plantas y algunas bacterias son capaces de utilizar energía de fotosíntesis para reducir el dióxido de carbono a expensas del agua. Estos microorganismos pertenecen al grupo de microorganismos **autótrofos**, seres vivos que no necesitan nutrientes orgánicos para su desarrollo. Otros microorganismos autótrofos son los **quimiolitótrofos**, que utilizan sustratos inorgánicos como hidrógeno y tiosulfato como reductor y dióxido de carbono como fuente de carbono.

Los microorganismos **heterótrofos,** para su desarrollo, requieren carbono orgánico que debe encontrarse en una forma que puedan asimilar. Por ejemplo, el naftaleno proporciona todo el carbón y energía necesarios para el desarrollo de microorganismos heterótrofos respiratorios, pero muy pocos microorganismos poseen la vía metabólica necesaria para la asimilación de naftaleno. Por otra parte, la glucosa puede sustentar el desarrollo mediante procesos de respiración o fermentación en muchos microorganismos. Es importante que los sustratos de crecimiento se suministren a niveles apropiados para la cepa microbiana que se está cultivando: las concentraciones que sostienen el desarrollo del microorganismo pueden inhibir el desarrollo de otro.

El dióxido de carbono es necesario para varias reacciones de fotosíntesis. Muchos microorganismos respiratorios producen más del dióxido de carbono necesario para satisfacer sus necesidades, en tanto que otros requieren fuentes de dióxido de carbono en su medio de cultivo.

Fuentes de nitrógeno

El nitrógeno es un constituyente importante de las proteínas, ácidos nucleicos y otros compuestos, y constituye casi 5% del peso seco de una bacteria típica. El nitrógeno inorgánico molecular (N_2), es muy prevalente pues constituye casi 80% de la atmósfera terrestre. Es un compuesto muy estable, principalmente porque se requieren altas cantidades de energía de activación para romper su triple enlace entre ambos átomos de nitrógeno. Sin embargo, éste puede proporcionarse en diversas formas y los microorganismos varían en cuanto a su capacidad para asimilarlo (cuadro 5-1). El producto terminal de todas las vías para la asimilación de nitrógeno es la forma más reducida del elemento, el amoniaco (NH_3). Cuando se cuenta con NH_3, se difunde hacia el interior de la mayor parte de las bacterias a través de conductos transmembrana como gas disuelto en lugar de forma de ion amonio (NH_4^+).

La capacidad de asimilar N_2 en forma reducida como NH_3, proceso denominado **fijación de nitrógeno**, es una propiedad singular de las células procariotas y muy pocas bacterias son capaces de desdoblar el triple enlace entre ambos átomos de nitrógeno. Este proceso (cap. 6) necesita grandes cantidades de energía metabólica y se desactiva con facilidad por el oxígeno. La capacidad de fijación de nitrógeno se encuentra en bacterias muy divergentes que han evolucionado con estrategias bioquímicas bastante diferentes para proteger sus enzimas fijadoras de nitrógeno de la exposición con el oxígeno.

La mayor parte de los microorganismos pueden utilizar NH_3 como única fuente de nitrógeno y muchos microorganismos poseen la capacidad de producir NH_3 a partir de aminas ($R—NH_2$) o a partir de aminoácidos ($RCHNH_2COOH$), por lo común en el interior de la célula. La producción de NH_3 por desaminación de aminoácidos se denomina **amonificación**. El amoniaco se introduce en la materia orgánica por vías bioquímicas que incluyen al glutamato y glutamina. Estas vías se revisan en el capítulo 6.

Muchos microorganismos poseen la capacidad de asimilar nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-) mediante la conversión de estos iones en NH_3. Tales procesos se conocen como **reducción de nitratos por asimilación** y **reducción de nitritos por asimilación**, respectivamente. Estas vías para la asimilación difieren de las vías utilizadas para **catabolizar** nitratos y nitritos. Las vías catabólicas utilizadas por microorganismos emplean estos iones como aceptores terminales de electrones en la respiración. Algunas bacterias autótrofas (p. ej., *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*) son capaces de convertir NH_3 a N_2 gaseoso bajo condiciones anaerobias; este proceso se conoce como **desnitrificación**. Continúa en evolución la comprensión del ciclo del nitrógeno. A mediados del decenio de 1990 se descubrió la reacción de oxidación anaerobia del ion amonio (**anammox**). La reacción

$$NH_4^+ + NO_2^- \rightarrow N_2 + 2H_2O$$

en la cual un nitrito oxida al amoniaco, es un proceso microbiano que ocurre en aguas anóxicas en el océano y es la principal vía por la cual regresa el nitrógeno hacia la atmósfera.

CUADRO 5-1 Fuentes de nitrógeno en la nutrición microbiana

Compuesto	Valencia del nitrógeno
NO_3^-	+5
NO_2^-	+3
N_2	0
NH_4^+	–3
$R\text{-}NH_2$[a]	–3

[a] R, radical orgánico.

Fuentes de azufre

Al igual que el nitrógeno, el azufre es un componente de muchas sustancias orgánicas de las células. Forma parte de la estructura de varias coenzimas y se encuentra en las cadenas laterales de cisteinil y metionil de las proteínas. El azufre en su forma elemental no puede utilizarse por plantas o animales. Sin embargo, algunas bacterias autótrofas pueden oxidarse a su forma de sulfato (SO_4^{2-}). La mayor parte de los microorganismos pueden utilizar sulfato como fuente de azufre, al reducir el sulfato al nivel de ácido sulfhídrico (H_2S). Algunos microorganismos pueden asimilar H_2S directamente del medio de cultivo, pero este compuesto puede ser tóxico para muchos de ellos.

Fuentes de fósforo

El fosfato (PO_4^{3-}) es necesario como componente del ATP, ácidos nucleicos y coenzimas como NAD, NADP y flavinas. Además, muchos metabolitos, lípidos (fosfolípidos, lípido A), componentes de las paredes celulares (ácido teicoico), algunos polisacáridos capsulares y algunas proteínas sufren fosforilación. El fosfato siempre se asimila en forma de fosfato inorgánico libre (P_i).

Fuentes de minerales

Numerosos minerales son necesarios para la función de las enzimas. El magnesio (Mg^{2+}) y el ion ferroso (Fe^{2+}) también se encuentran en derivados de porfirina: el magnesio en las moléculas de clorofila, el hierro como parte de las coenzimas de los citocromos y peroxidasas. Mg^{2+} y K^+ son esenciales para la función e integridad de los ribosomas. El calcio es necesario como constituyente de las paredes celulares de bacterias grampositivas, aunque es indispensable para las bacterias gramnegativas. Muchos microorganismos marinos requieren Na^+ para su desarrollo. Durante la elaboración de un medio para el cultivo de la mayor parte de los microorganismos, es necesario proporcionar fuentes de potasio, magnesio, calcio e hierro, por lo general en sus formas iónicas (K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+} y Fe^{2+}). Son necesarios muchos otros minerales (p. ej., Mn^{2+}, Mo^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+} y Zn^{2+}); éstos con frecuencia pueden suministrarse en agua corriente o como contaminantes de otros ingredientes de los medios de cultivo.

La captación de hierro, que forma hidróxidos insolubles a pH neutro, es facilitada en muchas bacterias y hongos por la producción de **sideróforos**, compuestos que tienen la capacidad de generar y favorecer su transporte en forma de complejo soluble. Esto incluye a los hidroxamatos ($-CONH_2OH$) conocidos como sideraminas y derivados de catecoles (p. ej., 2,3-dihidroxibenzoilserina). Los sideróforos determinados por plásmidos desempeñan una función importante en la capacidad de invasión de algunos patógenos bacterianos (cap. 7). Los mecanismos de captación de hierro dependientes de sideróforos y de no sideróforos por las bacterias se revisan en el capítulo 9.

Factores de crecimiento

Un factor de crecimiento es un compuesto orgánico que debe contener la célula a fin de desarrollarse, pero que es incapaz de sintetizar. Muchos microorganismos que reciben los nutrientes mencionados antes son capaces de sintetizar todos los bloques para la construcción de macromoléculas (fig. 5-1): aminoácidos, purinas, pirimidinas y pentosas (precursores metabólicos de ácidos nucleicos); carbohidratos adicionales (precursores de polisacáridos) y ácidos grasos y compuestos isoprenoides. Además, los microorganismos de vida libre deben ser capaces de sintetizar complejos vitamínicos que actúan como precursores de coenzimas.

Cada uno de estos compuestos esenciales se sintetiza por una secuencia de reacciones enzimáticas; cada enzima se produce bajo el control de un gen específico. Cuando un microorganismo sufre una mutación genética que da origen a la falla en una de estas funciones enzimáticas, la cadena se rompe y ya no se elabora el producto terminal. El microorganismo debe obtener el compuesto de su entorno: el compuesto se transforma en un **factor de crecimiento** para el microorganismo. Este tipo de mutación puede inducirse con facilidad en el laboratorio.

Diferentes especies microbianas varían ampliamente en cuanto a sus necesidades de factores de crecimiento. Los compuestos involucrados se encuentran y son esenciales en todos los microorganismos; las diferencias en cuanto a necesidades refleja las diferencias en sus capacidades de síntesis. Algunas especies no requieren factores de crecimiento, en tanto que otras (p. ej., los lactobacilos) perdieron durante su evolución la capacidad de sintetizar hasta 30 a 40 compuestos esenciales y por tanto necesitan obtenerlos de su medio ambiente.

FACTORES AMBIENTALES QUE AFECTAN EL CRECIMIENTO

Un medio de cultivo adecuado debe contener todos los nutrientes necesarios para el microorganismo a cultivar y tales factores incluyen pH, temperatura y aireación que deben ser controlados con gran cuidado. Se utiliza un medio de cultivo líquido; al medio de cultivo puede añadirse agar o gel de sílice para que adquiera consistencia de gel para situaciones especiales. El agar es un polisacárido extraído de algas marinas que es singular para el cultivo microbiano por su resistencia a la acción microbiana y porque se disuelve a 100°C pero no forma placas de gel hasta que se encuentra por debajo de 45°C; las células pueden suspenderse en el medio a 45°C y enfriar con rapidez dicho medio de cultivo hasta que adquiera la consistencia de gel, sin lesionar a las bacterias.

Nutrientes

En páginas previas se describe cada tipo de nutriente y se presenta una lista de sustancias apropiadas. En general, debe suministrarse lo siguiente: 1) donadores y aceptores de hidrógeno:

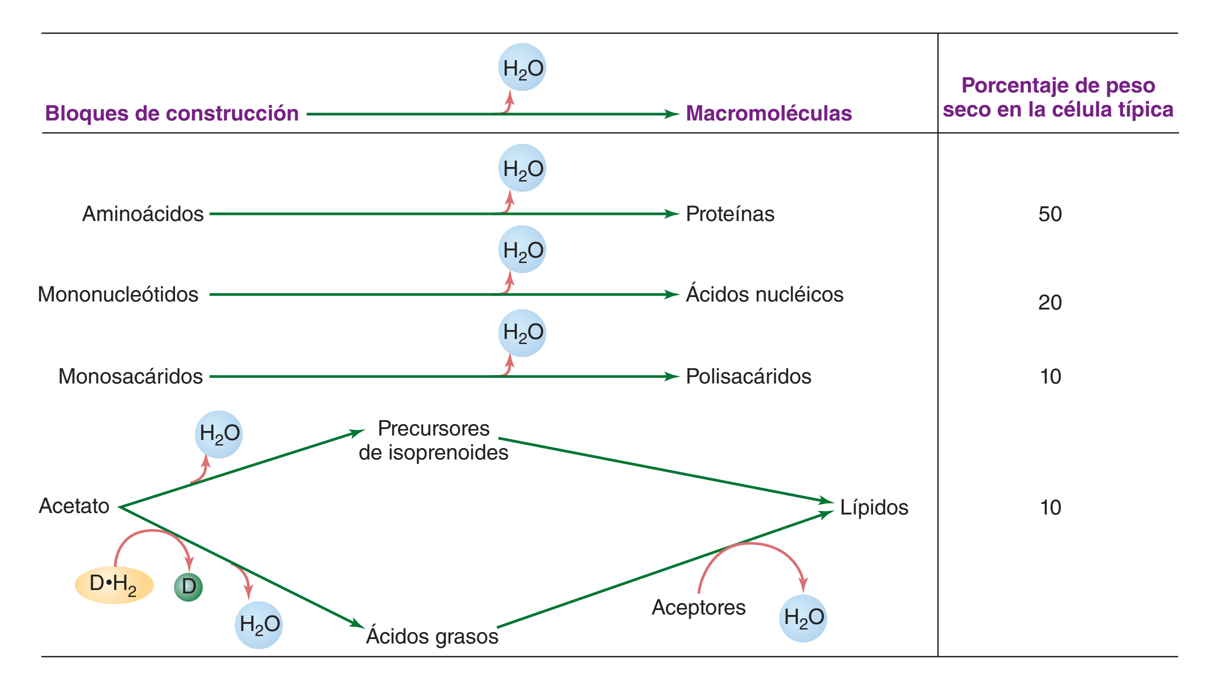


FIGURA 5-1 Síntesis de macromoléculas. La polimerización de los bloques de construcción en macromoléculas se logra en gran medida mediante la introducción de enlaces anhídrido. La formación de ácidos grasos a partir de acetato requiere varias etapas de reducción bioquímica utilizando donadores de hidrógeno orgánico ($D \cdot H_2$).

casi 2 g/L; 2) fuente de carbono: casi 1 g/L; 3) fuente de nitrógeno: casi 1 g/L; 4) minerales: azufre, fósforo, casi 50 mg/L de cada uno y oligoelementos, 0.1 a 1 mg/L de cada uno, y 5) factores de crecimiento: aminoácidos, purinas, pirimidinas, casi 50 mg/L de cada uno y vitaminas, 0.1 a 1 mg/L de cada uno.

Para estudios del metabolismo microbiano, por lo general es necesario preparar un medio completamente sintético en el cual se conocen las características y concentración exactas de cada uno de los ingredientes. Es mucho menos costoso y más simple utilizar materiales naturales como extractos de levaduras, proteínas ingeridas o sustancias similares. La mayor parte de los microbios de vida libre se desarrollan bien en extractos de levaduras; las formas parasitarias pueden necesitar sustancias especiales que se encuentran sólo en la sangre o en extractos de tejidos de animales. Sin embargo, hay microbios parasitarios (p. ej., *Treponema pallidum*) que no pueden cultivarse *in vitro* o que crecen en el interior de células eucariotas (p. ej., *Chlamydia trachomatis*).

Para muchos microorganismos, un compuesto simple (como un aminoácido) puede actuar como fuente de energía, de carbono y nitrógeno en tanto que otras requieren compuestos separados para cada uno de estos elementos. Si los materiales naturales para medios no sintéticos son deficientes en algún nutriente particular, deben realizarse complementaciones.

Concentración de iones hidrógeno (pH)

La mayor parte de los microorganismos tienen un pH óptimo muy estrecho. El pH óptimo debe determinarse empíricamente para cada especie. La mayor parte de los microorganismos **(neutrolófilos)** proliferan mejor en un pH de 6.0 a 8.0, aunque algunas formas (**microorganismos acidófilos)** encuentran su cifra óptima con pH de 3.0 y otros (**alcalófilos**) tienen un pH óptimo de hasta 10.5.

Los microorganismos regulan su pH interno pese a la amplia gama de cifras de pH externo mediante el bombeo de protones hacia el interior o al exterior de la célula. Los microorganismos acidófilos mantienen su pH interno en casi 6.5 sobre un pH externo de 1.0 a 5.0; las células neutras mantienen un pH interno cercano a 7.5 con intervalos externos de pH de 5.5 a 8.5; los microorganismos alcalófilos mantienen un pH interno de casi 9.5 sobre intervalos externos de 9.0 a 11.0. El pH interno está regulado por un grupo de sistemas de transporte de protones en la membrana citoplásmica, lo que incluye una bomba de protones controlada por ATP y un intercambiador de Na^+/H^+. El sistema de intercambio de K^+/H^+ parece contribuir a la regulación del pH interno en microorganismos con pH neutro.

Temperatura

Las diferentes especies microbianas varían ampliamente en cuanto a sus intervalos óptimos de temperatura para su proliferación. Los **psicrófilos** se desarrollan mejor en temperaturas bajas (15 a 20°C) los **mesófilos** a 30 a 37°C y los **termófilos** a temperaturas de 50 a 60°C. Algunos microorganismos son **hipertermófilos** y pueden desarrollarse a temperatura de ebullición, la cual existe en sitios con alta presión como en las profundidades del océano. La mayor parte de los microorganismos son mesófilos; 30°C es la temperatura óptima para muchas formas de vida libre y la temperatura corporal del hospedador es óptima para simbiontes homeotermos.

El extremo superior de las temperaturas toleradas por cualquier especie dada se correlaciona bien con la estabilidad térmica general de las proteínas de dicha especie, medidas en extractos celulares. Los microorganismos comparten con las plantas y animales la **respuesta al golpe de calor**, que consiste en la síntesis transitoria de un grupo de "proteínas de golpe de calor" cuando se exponen a incrementos súbitos en la temperatura por arriba de la temperatura óptima de proliferación. Tales proteínas pare-

cen ser inusualmente resistentes a la temperatura y estabilizan a proteínas celulares sensibles al incremento térmico.

La relación de la tasa de proliferación con la temperatura para cualquier microorganismo dado se observa en el gráfico típico de Arrhenius (fig. 5-2). Arrhenius demostró que el logaritmo de la velocidad de cualquier reacción química (log k) es una función lineal del recíproco de la temperatura ($1/T$); como el crecimiento celular es consecuencia de un grupo de reacciones químicas, cabría esperar que se observe esta relación. En la figura 5-2 se muestra el caso de temperaturas por arriba de intervalos normales para una especie dada; el log k disminuye linealmente con $1/T$. Por arriba y por abajo del intervalo normal, log k disminuye con rapidez, de forma que se definen las temperaturas máxima y mínima.

Además de sus efectos sobre la tasa de proliferación, las temperaturas extremas matan a los microorganismos. La temperatura muy elevada se utiliza para esterilizar preparaciones (cap. 4); el frío extremo también destruye microorganismos, aunque no puede utilizarse con seguridad con fines de esterilización. Las bacterias también muestran el fenómeno conocido como **choque de enfriamiento**: las células mueren con el enfriamiento rápido (a diferencia de lo que ocurre con el enfriamiento lento). Por ejemplo, el enfriamiento rápido de *Escherichia coli* de 37 a 5°C puede destruir 90% de las células. Varios compuestos protegen a las células del choque de calor o de congelamiento; a menudo se utilizan glicerol y dimetil sulfóxido.

Aireación

En el capítulo 6 se revisa la función del oxígeno como aceptor de hidrógeno. Muchos microorganismos son aerobios obligados, es decir, de manera específica necesitan oxígeno como aceptor de hidrógeno; algunos anaerobios son facultativos, es decir, tienen la capacidad de vivir de forma aerobia o anaerobia; en tanto que otros son anaerobios obligados, pues requieren una sustancia diferente al oxígeno como aceptor hidrógeno y son sensibles a la inhibición con oxígeno.

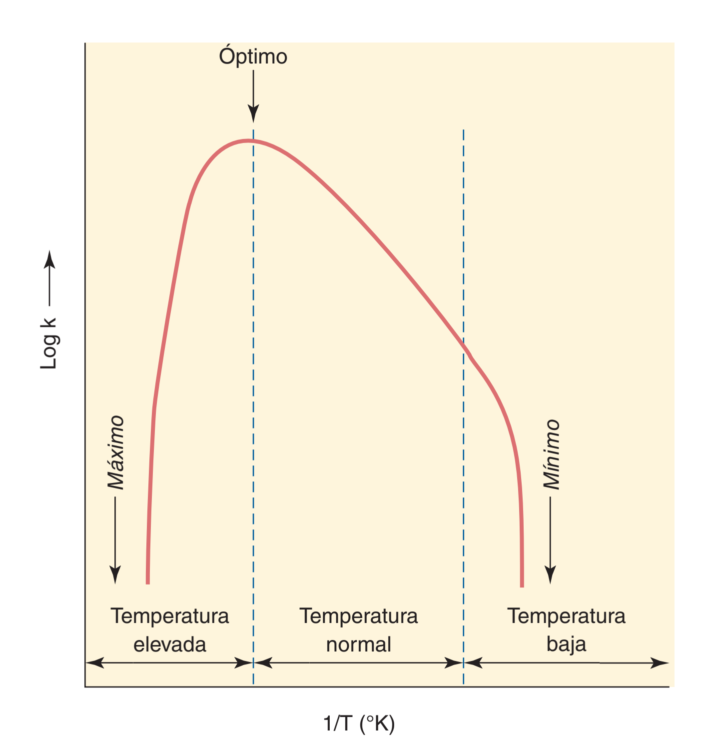


FIGURA 5-2 Forma general del gráfico de Arrhenius de la proliferación bacteriana. (Reproducida con autorización de Ingraham JL: Growth of psychrophilic bacteria. J Bacteriol July 76(1):75-80,1958.)

Los productos secundarios naturales del metabolismo aerobio son compuestos reactivos de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y superóxido (O_2^-). En presencia de hierro estas sustancias generan radicales hidroxilo (•OH) que pueden dañar cualquier macromolécula biológica:

$$O_2^- + H_2O_2 \xrightarrow{Fe^{3+}/Fe^{2+}} O_2 + OH^- + \bullet OH$$

Muchos microorganismos anaerobios y anaerobios tolerantes al aire se protegen de estos productos por la presencia de superóxido dismutasa, una enzima que cataliza la reacción

$$2O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$$

y por la presencia de una catalasa, una enzima que cataliza la reacción

$$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$$

Algunos microorganismos fermentados (p. ej., *Lactobacillus plantarum*) son tolerantes al aire pero no contienen catalasa o superóxido dismutasa. No hay reducción del oxígeno y por tanto no se producen H_2O_2 y O_2^-. Todos los anaerobios estrictos carecen de superóxido dismutasa y catalasa. Algunos microorganismos anaerobios (p. ej., *Peptococcus anaerobius*) tienen tolerancia considerable al oxígeno como consecuencia de su capacidad para producir cifras elevadas de la enzima (NADH oxidasa) que reduce oxígeno a agua con base en la reacción

$$NADH + H^+ + \tfrac{1}{2}O_2 \longrightarrow NAD^+ + H_2O$$

El peróxido de hidrógeno debe gran parte de su toxicidad al daño que causa al DNA. Los mutantes con reparación deficiente del DNA son excepcionalmente sensibles al peróxido de hidrógeno; el producto génico *recA* participa en la recomendación genética y en la reparación y ha mostrado ser más importante que la catalasa o la superóxido dismutasa para proteger células de *E. coli* contra la toxicidad por peróxido de hidrógeno.

El proporcionar aire a los cultivos de bacterias aerobias es un problema técnico mayor. Por lo común se lleva a cabo un mezclado mecánico para introducir oxígeno al medio de cultivo o bien se fuerza el paso de aire a través del medio de cultivo por medio de presión. La difusión de oxígeno a menudo se vuelve un factor limitante en la proliferación de bacterias aerobias; cuando se alcanza una concentración de 4 a 5×10^9/ml de células, la tasa de difusión de oxígeno limita la tasa de proliferación de las células en gran medida.

Por otra parte, los anaerobios obligados presentan el problema de la eliminación del oxígeno. Se dispone de muchos métodos para lograr esto: pueden añadirse agentes reductores

como el tioglicolato de sodio a los cultivos líquidos; los tubos de agar pueden sellarse con una capa de vaselina y parafina; las placas de cultivo deben colocarse en un contenedor al cual se le retira el oxígeno por medio de vacío o por agentes químicos o bien el microorganismo puede manipularse en una caja cerrada en un medio anaerobio.

Concentración iónica y presión osmótica

En menor grado, deben controlarse factores como la presión osmótica y concentración de sales. Para la mayor parte de los microorganismos, las propiedades de los medios de cultivo ordinarios son satisfactorias; sin embargo, para formas marinas y microorganismos adaptados para crecer en soluciones hipertónicas de azúcar, por ejemplo, deben tomarse en consideración tales factores. Los microorganismos que requieren concentraciones elevadas de sales se denominan **halófilos**, aquellos que requieren presiones osmóticas elevadas se denominan **osmófilos**.

La mayor parte de las bacterias son capaces de tolerar amplias variaciones de presión osmótica externa y de concentraciones iónicas. La osmolalidad está regulada por transporte activo de iones de K^+ hacia el interior de la célula; la concentración iónica interna se mantiene constante por excreción compensadora de putresceína, una poliamina orgánica con carga positiva. Como la putresceína transporta varias cargas positivas por molécula, una gran reducción en la concentración iónica se lleva a cabo con un pequeño costo en la concentración osmótica.

MÉTODOS DE CULTIVO

Deben considerarse dos problemas: elección del medio de cultivo apropiado y aislamiento de un microorganismo bacteriano.

Medios de cultivo

La técnica y medio de cultivo utilizados dependen de la naturaleza de la investigación. En términos generales, pueden encontrarse tres situaciones: 1) tal vez sea necesario cultivar un grupo de células de una especie en particular que se encuentran a la mano; 2) puede ser necesario establecer el número y tipo de microorganismos presentes en un material dado, o 3) podría desearse el aislamiento de un tipo particular de microorganismo a partir de una fuente natural.

A. Desarrollo celular de una especie dada

Los microorganismos observados en el microscopio pueden proliferar en su ambiente natural y pueden ser extremadamente difíciles de hacer crecer en un medio de cultivo artificial puro. Ciertas formas parasitarias nunca han sido cultivadas fuera del hospedador. Sin embargo, en términos generales puede diseñarse un medio de cultivo apropiado para reproducir cuidadosamente las condiciones encontradas en el entorno natural del microorganismo. El pH, temperatura y aireación son fáciles de duplicar; los nutrientes presentes constituyen el mayor problema. La contribución por el entorno en que se desarrolla el microorganismo es importante y difícil de analizar; un parásito podría necesitar un extracto de tejido del hospedador; una forma de vida libre podría necesitar una sustancia excretada por un microorganismo y con la cual se encuentra asociada. Podría ser necesaria una gran cantidad de experimentación para establecer las necesidades del microorganismo y el éxito depende de proporcionar una fuente apropiada de cada uno de los nutrientes mencionados al inicio de este capítulo. El cultivo de parásitos obligados como clamidias se revisa en el capítulo 27.

B. Estudio microbiológico de materiales naturales

Un material dado puede contener muchos microambientes diferentes y cada uno proporciona un nicho para diferentes especies. El cultivo de una muestra de material bajo cierto grupo de condiciones permitirá que un grupo selecto de formas produzca colonias, pero podría ocasionar que se pasen por alto muchos otros tipos. Por tal razón, se acostumbra cultivar las muestras de mar utilizando diversos medios de cultivo con diferentes condiciones de incubación, según sea posible en condiciones prácticas. No es irracional utilizar seis u ocho medios de cultivo y condiciones de cultivo diferentes si se van a identificar la mayor parte de las formas presentes.

Cada tipo de microorganismo debe tener la posibilidad de proliferar, por lo que se utilizan medios sólidos para evitar el aglomeramiento de colonias. Por otra parte, la competencia evitará que se formen algunos tipos de colonias.

C. Aislamiento de un microorganismo en particular

Una pequeña muestra de tierra, si se manipula de manera apropiada, permite el cultivo de diferentes tipos de microorganismos en cada microentorno presente. Para la tierra fértil (húmeda, aireada, rica en minerales y material orgánico) esto significa que pueden aislarse cientos o incluso miles de tipos bacterianos, lo cual se lleva a cabo al seleccionar el tipo deseado. Por ejemplo, 1 g de tierra se inocula en un frasco de medio de cultivo líquido que se elaboró con el fin de favorecer el crecimiento de un tipo de microorganismo, por ejemplo, bacterias aerobias fijadoras de nitrógeno (azobacterias). En este caso, el medio no contiene nitrógeno combinado y se incuba en un medio anaerobio. Si las azobacterias están presentes en la tierra, proliferan bien en este medio de cultivo; las formas incapaces de fijar nitrógeno crecerán sólo en la medida que la tierra tenga contaminantes que fijen nitrógeno en el medio. Cuando el cultivo se ha desarrollado por completo, el porcentaje de azobacterias en la población total se habrá incrementado en gran medida; este método se denomina “cultivo enriquecido”. La transferencia de una muestra de este cultivo a un medio fresco dará origen a un enriquecimiento adicional de las azobacterias; después de varias transferencias seriadas el cultivo puede colocarse en un medio de cultivo sólido enriquecido, lo que permite el aislamiento de colonias de azobacterias.

El medio líquido se utiliza para permitir la competencia y por tanto la selección óptima, incluso cuando el tipo deseado es representado en la tierra por sólo una pequeña cantidad de células en la población de millones. Pueden obtenerse ventajas del “enriquecimiento natural”. Por ejemplo, al observar oxidantes de queroseno, se elige tierra contaminada con aceite, porque éste es un medio ya enriquecido para tales formas bacterianas.

El **enriquecimiento de cultivos** es un procedimiento por medio del cual se prepara el medio de cultivo para duplicar el ambiente natural (“nicho”) del microorganismo deseado, por lo que se permite su selección. Un principio importante involu-

crado en tal selección es el siguiente: el microorganismo seleccionado será del tipo del cual se han satisfecho sus necesidades nutricionales. Por ejemplo, las azobacterias crecen en un medio de cultivo que contiene nitrógeno orgánico, pero sus necesidades mínimas consisten en la presencia de N_2; por tanto, se elige un medio de cultivo que contenga N_2 como la única fuente de nitrógeno. Si se añade nitrógeno orgánico al medio de cultivo, las condiciones ya no serán selectivas para azobacterias, sino que serán para formas para las cuales el nitrógeno orgánico es una necesidad mínima.

Cuando se busca un tipo particular de microorganismo en material natural es ventajoso cultivar los microorganismos obtenidos en un **medio de cultivo diferencial**, si éste se encuentra disponible. Un medio de cultivo diferencial es aquel que ocasiona que las colonias de un tipo particular de microorganismo tengan un aspecto distintivo. Por ejemplo, las colonias de *E. coli* tienen un color verdoso iridiscente característico al cultivarse en agar que contiene eosina y azul de metileno (agar EMB). El agar EMB contiene altas concentraciones de un carbohidrato que ocasiona que los microorganismos que fermentan azúcar formen colonias de color rojizo. Los medios de cultivo diferenciales se utilizan para propósitos como la identificación de bacterias entéricas en agua o leche y la presencia de ciertos patógenos en muestras clínicas.

En el cuadro 5-2 se muestran ejemplos de condiciones de cultivo enriquecidos y tipos de bacterias que seleccionarán. Sin embargo, pese a los mejores esfuerzos, muchos ambientes contienen numerosas bacterias no cultivadas.

Aislamiento de microorganismos en cultivos puros

A fin de estudiar las propiedades de un microorganismo dado, es necesario manipularlo en cultivos puros sin otros tipos de microorganismos. Para llevar a cabo esto, debe aislarse una sola célula de todas las demás y cultivarse de forma tal que su progenie permanezca aislada. Se dispone de varios métodos.

A. Cultivo en placa

A diferencia de las células en medio líquido, las células en un medio de gel se encuentran en moles. Por tanto, si se colocan pocas células en un medio de gel, cada célula prolifera en una colonia aislada. El agente ideal para la formación de gel para la mayor parte de los medios de cultivo microbiológico es el **agar**, un polisacárido ácido extraído de ciertas algas rojas. Una suspensión al 1.5 a 2% en agua se disuelve a 100°C, dando origen a una solución clara que se gelifica a 45°. Así, una solución de agar estéril puede enfriarse a 50°, se añaden bacterias u otro microorganismo y más tarde la solución se enfría con rapidez por debajo de 45° para formar un gel. Aunque la mayor parte de las células microbianas se destruyen a 50°, el proceso de destrucción es lo suficientemente lento a esta temperatura para permitir que se lleve a cabo el procedimiento (fig. 4-3). Una vez formado el gel, el agar no vuelve a tornarse líquido hasta que se calienta por arriba de 80°, de manera que cualquier temperatura es apropiada para la incubación de un medio de cultivo microbiano. En el

CUADRO 5-2 Algunos medios de cultivo enriquecidos

Fuente de nitrógeno	Fuente de carbono	Atmósfera	Iluminación	Organismo predominante inicialmente enriquecido
N_2	CO_2	Aerobia o anaerobia	Oscuro	Ninguno
			Claro	Cianobacterias
	Alcohol, ácidos grasos, etc.	Anaerobia	Oscuro	Ninguno
		Aire	Oscuro	Azobacterias
	Glucosa	Anaerobia	Oscuro	*Clostridium pasteurianum*
		Aire	Oscuro	Azobacterias
$NaNO_3$	CO_2	Aerobia o anaerobia	Oscuro	Ninguna
			Claro	Algas verdes y cianobacterias
	Alcohol, ácidos grasos, etc.	Anaerobia	Oscuro	Desnitrificadores
		Aire	Oscuro	Aerobios
	Glucosa	Anaerobia	Oscuro	Fermentadores
		Aire	Oscuro	Aerobios
NH_4Cl	CO_2	Anaerobia	Oscuro	Ninguno
		Aerobia	Oscuro	Nitrosomonas
		Aerobia o anaerobia	Claro	Algas verdes y cianobacterias
	Alcohol, ácidos grasos, etc.	Anaerobia	Oscuro	Reductores de sulfato o de carbonato
		Aerobia	Oscuro	Aerobios
	Glucosa	Anaerobia	Oscuro	Fermentadores
		Aerobia	Oscuro	Aerobios

Nota: Constituyentes de todos los medios de cultivo: $MgSO_4$, K_2HPO_4, $FeCl_3$, $CaCl_2$, $CaCO_3$ y oligoelementos.

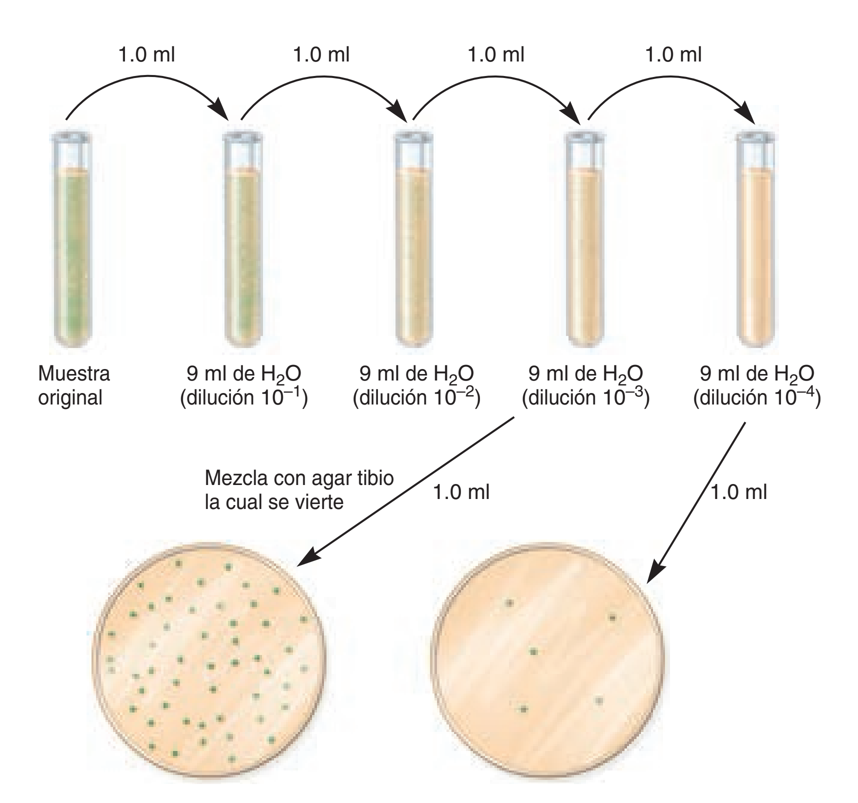


FIGURA 5-3 Técnica de vertido en placa. La muestra original se diluye varias veces para reducir lo suficiente la población. Las muestras más diluidas se mezclan con agar tibio y se vierten en cajas de Petri. Las células aisladas proliferan en colonias y se utilizan para establecer cultivos puros. La superficie de las colonias es circular; por debajo de la superficie adquieren forma lenticular. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: Prescott, Harley, & Klein's *Microbiology*, 7th edition, McGraw-Hill, 2008.)

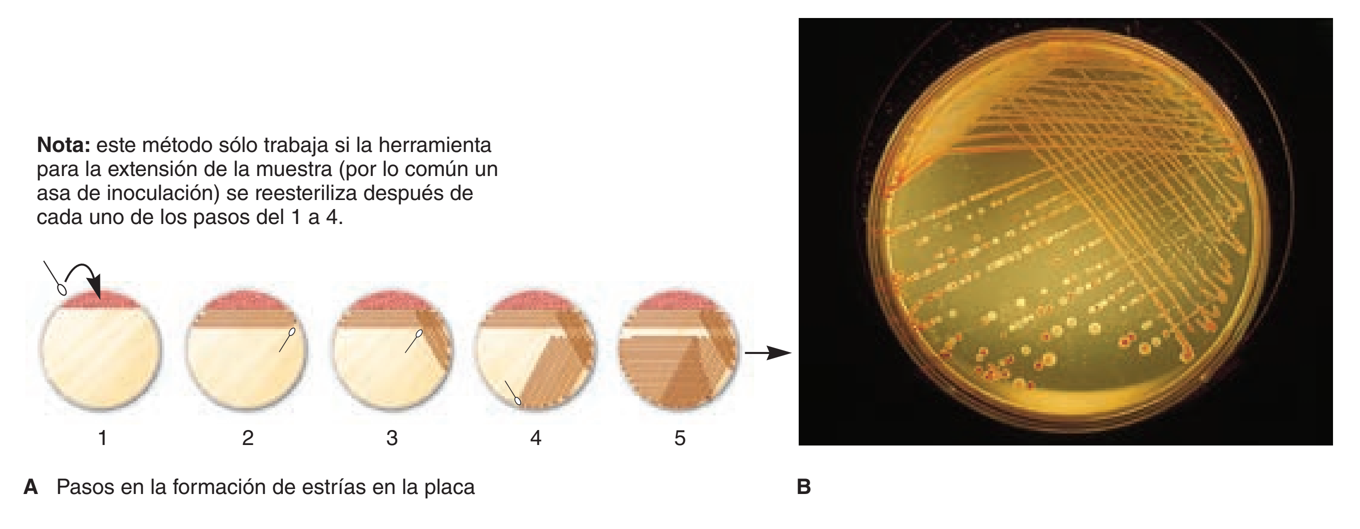


FIGURA 5-4 Técnica de estriano en placa. **A:** Patrón típico de estriación. **B:** Un ejemplo de la placa estriada. (Reproducida con autorización de Kathy Park Talaro.)

método de vertido en placa se mezcla una suspensión de células con agar líquido a 50° y se vierte en una **caja de Petri**. Cuando el agar se torna sólido, las células permanecen inmóviles en éste y proliferan dando origen a colonias. Si la suspensión celular está lo suficientemente diluida, las colonias se encontrarán bien separadas, de forma que cada una tiene una alta probabilidad de derivarse de una sola célula (fig. 5-3). Sin embargo, para tener la certeza es necesario tomar una colonia del tipo deseado, suspenderla en agua y repetir el procedimiento. La repetición de este procedimiento en varias ocasiones asegura que se obtenga un cultivo puro.

Otro método consiste en crear estrías de la suspensión original sobre una placa de agar con un asa de alambre (**técnica de estriado en placa**). Conforme se continúa con la creación de estrías, cada vez queda un menor número de células en el asa y por último el asa depositará una sola célula en el agar (fig. 5-4). La placa se incuba y cualquier colonia bien aislada se retira, se vuelve a suspender en agua y se repite el procedimiento en agar.

Si la suspensión se vuelve a someter al método de estriado en placa (no sólo una parte de la colonia), este método es tan fiable y mucho más rápido que el método de vertido en placa.

En la **técnica de extensión en placa** , un pequeño volumen de suspensión microbiana diluida que contiene 30 a 300 células se transfiere hacia el centro de la placa de agar y se extiende en forma uniforme sobre la superficie con una varilla de cristal estéril, doblada. Las células dispersadas dan origen a colonias. El número de colonias debe ser similar al número de microorganismos viables en la muestra, y por tanto la técnica de extensión en placa puede utilizarse para contar la población microbiana.

B. Dilución

Un método mucho menos fiable es el de la dilución hasta la extinción. Se realizan diluciones seriadas de la suspensión y las muestras de cada dilución se cultivan en placa. Si sólo unas cuantas muestras de una dilución en particular muestran crecimiento, se supone que algunas de las colonias iniciaron a partir de una sola célula. Este método no se utiliza a menos que sea imposible el cultivo en placa por alguna razón. Una característica indeseable de este método es que sólo puede utilizarse para aislar el tipo predominante de microorganismo en una población mixta.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. La mayor parte de los microorganismos patógenos para seres humanos se desarrollan mejor en el laboratorio cuando los cultivos se incuban a:
   (A) 15-20°C
   (B) 20-30°C
   (C) 30-37°C
   (D) 38-50°C
   (E) 50-55°C
2. El proceso por el cual un microorganismo produce ATP durante la fermentación de glucosa se caracteriza por
   (A) Acoplamiento de la producción de ATP con la transferencia de electrones
   (B) Desnitrificación
   (C) Reducción de oxígeno
   (D) Fosforilación del sustrato
   (E) Respiración anaerobia
3. ¿Cuáles de las siguientes técnicas de cultivo y medios de cultivo permitiría cuantificar el mayor número de especies microbianas en una muestra de tierra?
   (A) Enriquecimiento de cultivo
   (B) Un medio selectivo
   (C) Un medio diferencial
   (D) Un tubo de caldo con nutrientes
   (E) Varios medios diferentes y condiciones de cultivo diferentes
4. La polimerización de bloques de construcción (p. ej., aminoácidos) en macromoléculas (p. ej., proteínas) se logra en gran medida por
   (A) Deshidratación
   (B) Reducción
   (C) Oxidación
   (D) Asimilación
   (E) Hidrólisis
5. Una cepa de *E. coli* sufre mutación de forma tal que ya no se desarrolla en un medio de cultivo definido que contiene glucosa, sales minerales y cloruro de amonio. Sin embargo, es capaz de proliferar en un medio al cual se le añadió metionina. En este caso la metionina se convierte en
   (A) Una sal inorgánica
   (B) Una fuente de azufre
   (C) Un factor de crecimiento
   (D) Una fuente energética
   (E) Una fuente de nitrógeno

Respuestas

1. C 3. E 5. C
2. D 4. A

BIBLIOGRAFÍA

Adams MW: Enzymes and proteins from organisms that grow near or above 100 degrees C. Annu Rev Med 1993;47:627. [PMID: 8257111]

Koch AL: Microbial physiology and ecology of slow growth. Microbiol Molec Biol Rev 1997;61:305. [PMID: 9293184]

Lederberg J (editor): *Encyclopedia of Microbiology*, 4 vols. Academic Press, 1992.

Maier RM, Pepper IL, Gerba CP: *Environmental Microbiology*. Academic Press, 1992.

Marzlut GA: Regulation of sulfur and nitrogen metabolism in filamentary fungi. Annu Rev Microbiol 1993;42:89.

Pelczar MJ Jr, Chan ECS, Krieg NR: *Microbiology: Concepts and Applications*. McGraw-Hill, 1993.

Schloss PD, Handelsman J: Status of the microbial census. Microbiol Molec Biol Rev 2004;68:686.



CAPÍTULO

6

Metabolismo microbiano

PARTICIPACIÓN DEL METABOLISMO EN LA BIOSÍNTESIS Y CRECIMIENTO

El crecimiento microbiano requiere la polimerización de bloques bioquímicos de construcción para dar origen a proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos y lípidos. Los bloques de construcción pueden encontrarse preformados en el medio de cultivo o pueden sintetizarlo las células en crecimiento. Las demandas biosintéticas adicionales dependen de las necesidades de coenzimas para que participen en la catálisis enzimática.

Las reacciones biosintéticas de polimerización demandan la transferencia de enlaces anhídrido a partir del ATP. Para el crecimiento es necesaria una fuente de energía metabólica para la síntesis de enlaces anhídrido y para la conservación de los gradientes transmembrana de iones y metabolitos.

Los orígenes biosintéticos de los bloques de construcción y coenzimas pueden rastrearse hasta unos cuantos precursores, conocidos como **metabolitos focales**. En las figuras 6-1 a 6-4 se ilustra la forma en que los respectivos metabolitos focales como glucosa 6-fosfato, fosfoenolpiruvato, oxaloacetato y cetoglutarato α dan origen a la mayor parte de productos biosintéticos terminales. El metabolismo microbiano puede dividirse en cuatro categorías generales: 1) vías para la interconversión de metabolitos focales; 2) vías de asimilación para la formación de metabolitos focales; 3) secuencias biosintéticas para la conversión de metabolitos focales a productos terminales, y 4) vías que producen energía metabólica para crecimiento y mantenimiento.

Cuando se cuenta con los bloques de construcción de una fuente de energía metabólica, la célula sintetiza macromoléculas. La secuencia de bloques de construcción en una macromolécula depende de una de dos vías; en los ácidos nucleicos y proteínas es **dirigida por una plantilla** : el DNA actúa como plantilla para su propia síntesis y para la síntesis de diversos tipos de RNA; el RNA mensajero actúa como plantilla para la síntesis de proteínas. Por otra parte, para los carbohidratos y lípidos la disposición de los bloques de construcción depende en su totalidad de enzimas específicas. Una vez que se han producido las macromoléculas, se ensamblan para dar origen a estructuras supramoleculares de la célula, por ejemplo ribosomas, membranas, pared celular, flagelos y pilosidades.

La tasa de síntesis de macromoléculas y la actividad de las vías metabólicas debe ser regulada de forma que la biosíntesis permanezca en equilibrio. Todos los componentes necesarios para la síntesis de macromoléculas deben estar presentes para un crecimiento ordenado y debe ejercerse control de forma tal que los recursos de la célula no deben dar origen a productos que no contribuyan al crecimiento o supervivencia de la célula.

El capítulo contiene una revisión del metabolismo microbiano y su regulación. Los microorganismos representan extremos de la divergencia de la evolución y se encuentra una amplia gama de vías metabólicas en este grupo. Por ejemplo, cualquiera de más de media docena de vías metabólicas diferentes puede utilizarse para la asimilación de benzoato, un compuesto relativamente simple, y una vía simple para la asimilación de benzoato puede ser regulada por más de media docena de mecanismos de control. El objetivo de los autores es ilustrar los principios subyacentes a las vías metabólicas y su regulación. El principio fundamental que determina las vías metabólicas es el logro de unas cuantas reacciones bioquímicas relativamente organizadas en un orden específico. Muchas vías biosintéticas pueden deducirse al examinar las estructuras químicas del material inicial, el producto terminal y quizá uno o dos intermediarios metabólicos. El principio subyacente principal de la regulación metabólica es que las enzimas tienden a participar sólo cuando se demanda su actividad catalítica. La actividad de una enzima puede cambiarse al modificarse las cantidades de la misma o la cantidad de sustrato. En algunos casos, las actividades enzimáticas se alteran al unirse a **efectores** específicos, metabolitos que modulan la actividad enzimática.

METABOLITOS FOCALES Y SU INTERCONVERSIÓN

Interconversiones de glucosa 6-fosfato y carbohidratos

En la figura 6-1 se ilustra la forma en que la glucosa 6-fosfato se convierte a diversos productos terminales a través de ésteres de fosfato o de carbohidratos con diferentes longitudes de cadena. Los carbohidratos poseen la fórmula empírica $(CH_2O)_n$ y el objetivo primario del metabolismo de los carbohidratos es modificar *n*, es decir, la longitud de la cadena de carbonos. El mecanismo por el cual la longitud de la cadena de fosfatos de carbohidrato se interconvierte se resume en la figura 6-5. En un caso se utilizan reacciones de oxidación para eliminar un carbono de la molécula de glucosa 6-fosfato, produciendo un

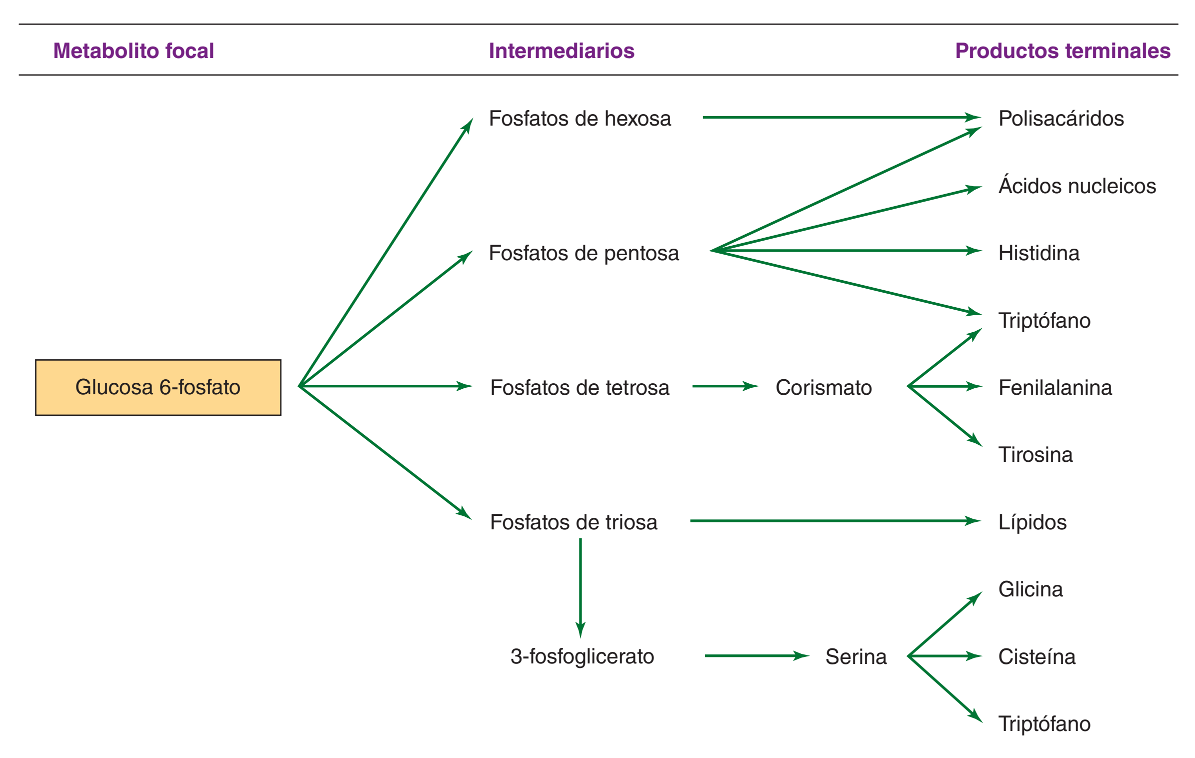


FIGURA 6-1 Productos biosintéticos terminales formados a partir de glucosa 6-fosfato. Los ésteres fosfato de carbohidrato de cadenas de longitud variable sirven como intermediarios en la vía biosintética.

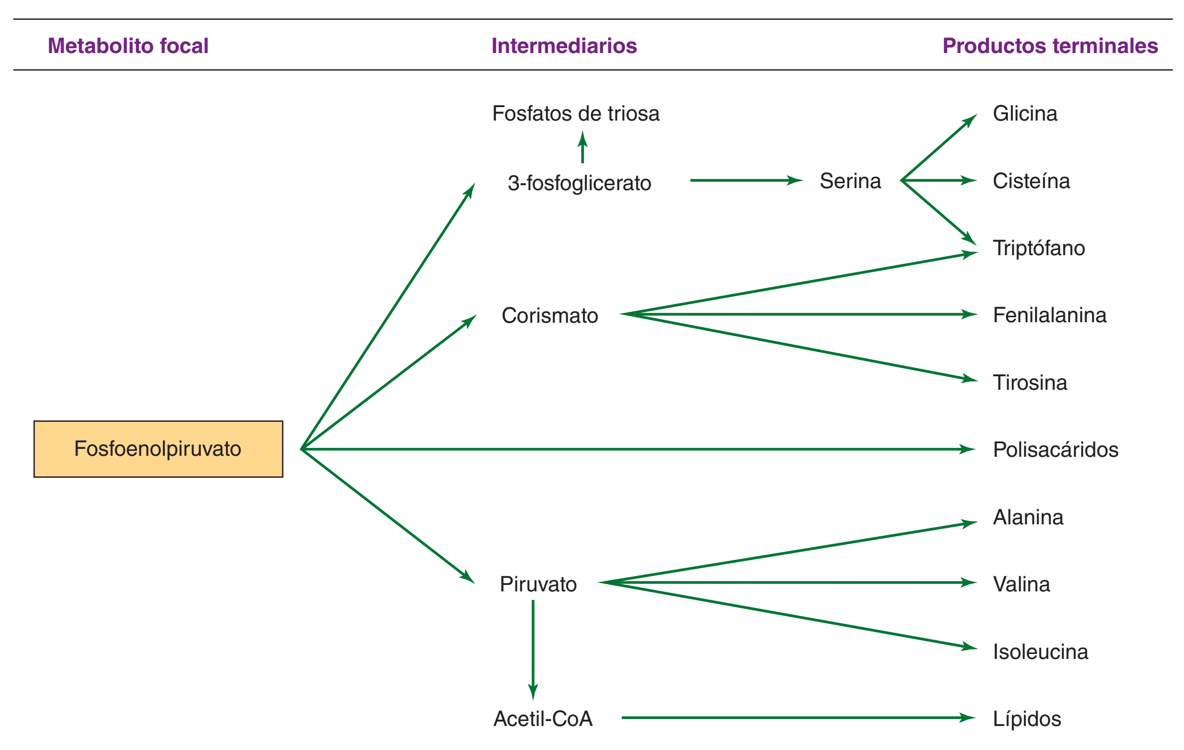


FIGURA 6-2 Productos biosintéticos terminales formados a partir de fosfoenolpiruvato.

derivado pentosa, la ribulosa 5-fosfato. Las reacciones de isomerasa y epimerasa transforman las formas bioquímicas más comunes de las pentosas: ribulosa 5-fosfato, ribosa 5-fosfato y xilulosa 5-fosfato. Las transcetolasas transfieren un fragmento de los carbonos de una molécula donadora a una aceptora. Estas reacciones permiten que se produzcan pentosas o que éstas se formen a partir de carbohidratos con diferentes longitudes de cadena. Como se muestra en la figura 6-5, 2 moléculas de pentosa 5-fosfato ($n = 5$) se interconvierten con triosa 3-fosfato ($n = 3$) y heptosa 7-fosfato ($n = 7$); la pentosa 5-fosfato ($n = 5$) y tetrosa 4-fosfato ($n = 4$) se interconvierten con triosa 3-fosfato ($n = 3$) y hexosa 6-fosfato ($n = 6$).

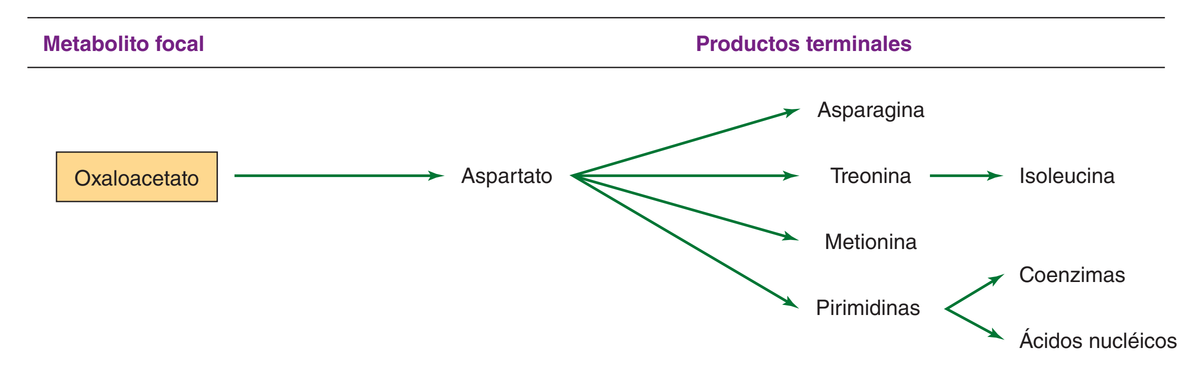


FIGURA 6-3 Productos biosintéticos terminales formados a partir de oxaloacetato. Los productos terminales aspartato, treonina y las pirimidinas sirven como intermediarios en la síntesis de compuestos adicionales.

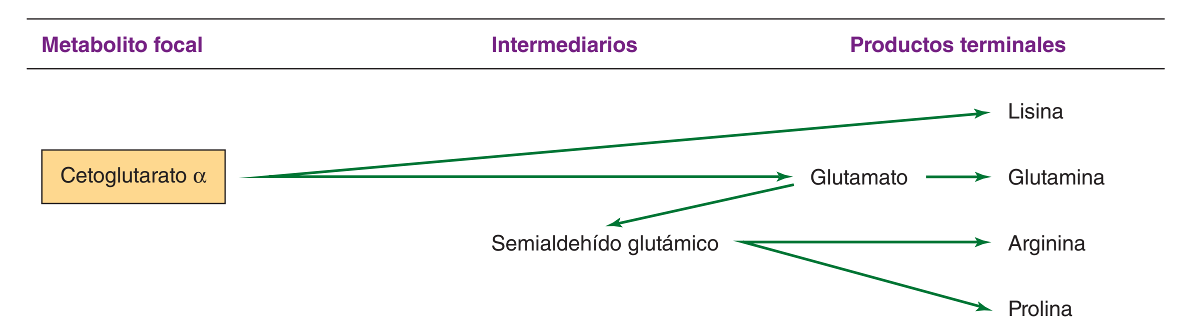


FIGURA 6-4 Productos biosintéticos terminales formados a partir de cetoglutarato α.

La cadena hexosa (de seis carbonos) de la fructosa 6-fosfato puede convertirse a dos moléculas de triosa (tres carbonos) por la acción consecutiva de cinasas y aldolasas que actúan sobre la fructosa 6-fosfato. También, las aldolasas actúan en combinación con las fosfatasas que en conjunto pueden utilizarse para incrementar la longitud de las moléculas de carbohidratos: las moléculas de triosa-fosfato pueden dar origen a fructosa 6-fosfato; una triosa-fosfato y tetrosa 4-fosfato pueden dar origen a heptosa 7-fosfato. La forma final de la interconversión en la longitud de la cadena del carbohidrato es la reacción de transaldolasa, en la cual ocurre la interconversión de heptosa 7-fosfato y triosa 3-fosfato a tetrosa 4-fosfato y hexosa 6-fosfato.

La coordinación de las diferentes disposiciones de los carbohidratos después de las reacciones para lograr un objetivo metabólico general se ilustra por la vía de monofosfato de hexosa (fig. 6-6). Este ciclo metabólico es utilizado por las cianobacterias para la reducción de NAD^+ a NADH, el cual actúa como reductor para la respiración en la oscuridad. Muchos organismos utilizan la vía de monofosfato de hexosa para reducir $NADP^+$ a NADPH, que se utiliza para reacciones biosintéticas de reducción. El primer paso en la vía de monofosfato de hexosa son reacciones de oxidación que acortan las moléculas de hexosa 6-fosfato (que se abriría como C_6 en la figura 6-6) a pentosa 5-fosfato (abreviado como C_5). Las reacciones de redisposición de los carbohidratos convierten seis moléculas de C_5 a cinco moléculas de C_6, de forma que puede continuar el ciclo de oxidación.

Todas las reacciones para la interconversión de carbohidratos con incremento de la longitud de las cadenas no se llevan a cabo al mismo tiempo. La selección de grupos específicos de enzimas, que en esencia determinan la vía metabólica a seguir, depende de la fuente de carbono y de las demandas biosintéticas de las células. Por ejemplo, una célula que utiliza triosa-fosfato como fuente de carbohidratos utilizará una combinación de aldolasa-fosfatasa para dar origen a fructosa 6-fosfato; no es de esperarse que la cinasa que actúa sobre la fructosa 6-fosfato en su interconversión a triosa-fosfato se active bajo tales circunstancias. Si las demandas para pentosa 5-fosfato son elevadas, como en el caso de la asimilación fotosintética de dióxido de carbono, las transcetolasas pueden dar origen a pentosa 5-fosfato que son muy activas.

En suma, la molécula de glucosa 6-fosfato puede considerarse como un metabolito focal porque actúa como precursor directo para la construcción de bloques metabólicos y como fuente de carbohidratos de longitud variable que se utilizan con fines biosintéticos. La glucosa 6-fosfato misma puede ser generada a partir de otros carbohidratos fosforilados por la selección de vías a partir de un grupo de reacciones para la interconversión de la longitud de las cadenas de carbohidratos. Las reacciones elegidas dependen del potencial genético de la célula, de la fuente primaria de carbono y de las demandas biosintéticas del organismo. Es necesaria la regulación metabólica para asegurar que las reacciones satisfagan las necesidades del organismo.

Formación y utilización de fosfoenolpiruvato

Las moléculas de triosa-fosfato se forman por la interconversión de fosfoésteres de carbohidrato y sufren interconversión a fosfoenolpiruvato por una serie de reacciones que se muestran en la figura 6-7. La oxidación de gliceraldehído 3-fosfato por NAD^+

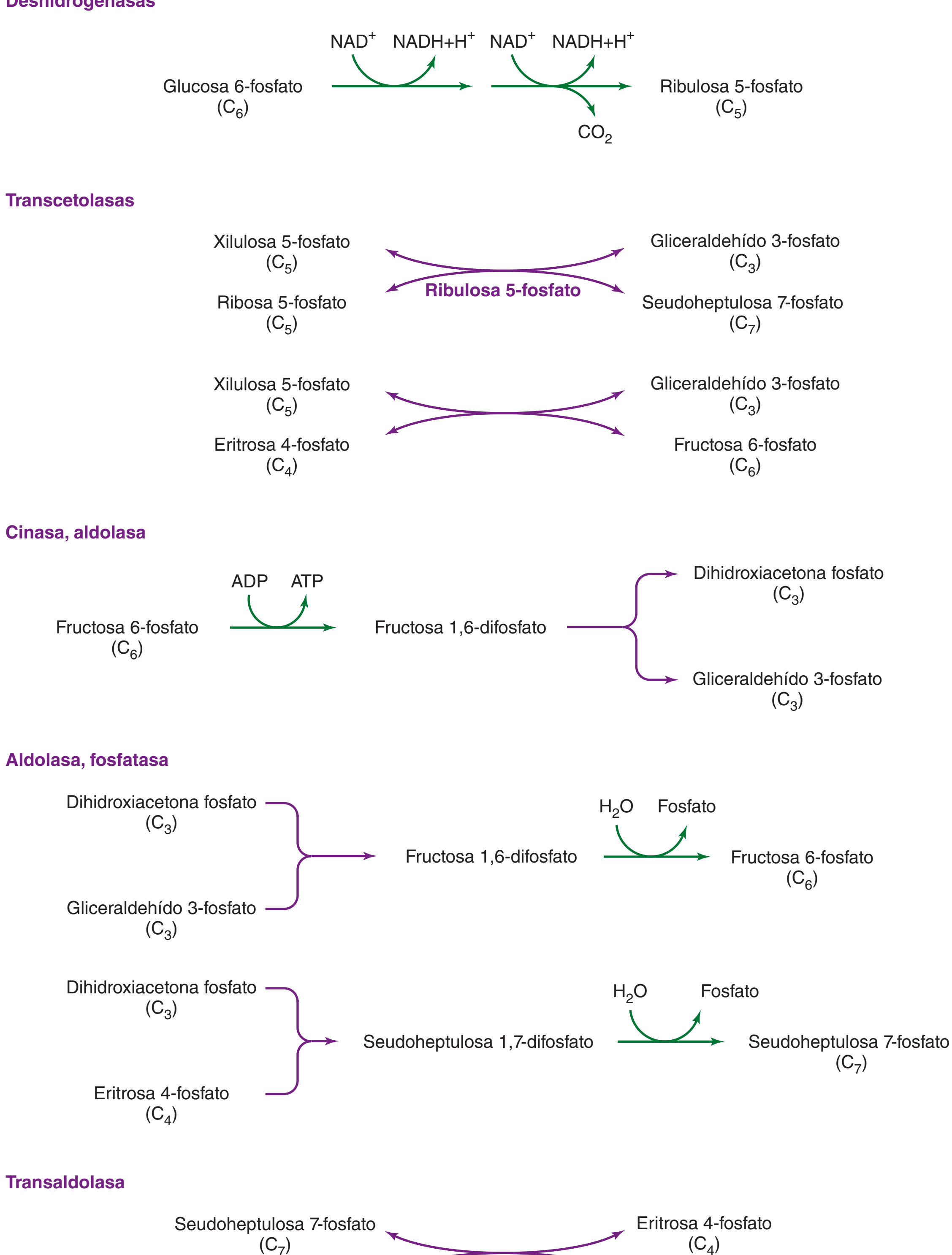


FIGURA 6-5 Mecanismos bioquímicos para el cambio de longitud de las moléculas de carbohidrato. La fórmula empírica general para los ésteres fosfato de carbohidratos ($C_nH_{2n}O_n$)-*N*-fosfato se abrevia como (C_n) con la finalidad de hacer énfasis en los cambios en la longitud de la cadena.

se acompaña de la formación de enlaces anhídrido en uno de los carbonos de la molécula de 1,3-difosfoglicerato. Este anhídrido de fosfato se transfiere en una **fosforilación de sustrato** a ADP, dando origen a enlaces ricos en energía en el ATP. Otro enlace de fosfato rico en energía se forma por la deshidratación del 2-fosfoglicerato a fosfoenolpiruvato; a través de otra fosforilación de sustrato el fosfoenolpiruvato puede donar enlaces ricos en energía al ADP, dando origen a la formación de ATP y piruvato. Así, pueden obtenerse dos enlaces ricos en energía en el ATP por medio de interconversión metabólica de triosa-fosfato

Reacción neta

$$\text{Glucosa 6-fosfato} + 12NAD^+ \xrightarrow{+ H_2O} 6CO_2 + 12NADH + \text{Fosfato}$$

6NAD$^+$ 6NADH 6NAD$^+$ 6NADH

$6C_6$ → $6C_5$ ($6CO_2$)

$2C_5$ $2C_3$ $2C_6$

Trans-cetolasa **Trans-aldolasa**

$2C_5$ $2C_7$ $2C_4$ $2C_6$

Trans-cetolasa

H_2O Fosfato

$2C_5$ $2C_3$ → C_6

Aldolasa, fosfatasa

FIGURA 6-6 Vía de monofosfato de hexosas. Las reacciones oxidativas (fig. 6-5) reducen el NAD$^+$ y producen CO_2, lo que acorta seis moléculas de fosfatos de hexosa (que se abrevian como C_6) a seis fosfatos de pentosa (que se abrevian como C_5). La predisposición de los carbohidratos (fig. 6-5) convierte los fosfatos de pentosa a fosfatos de hexosa de forma tal que puede continuar el ciclo oxidativo.

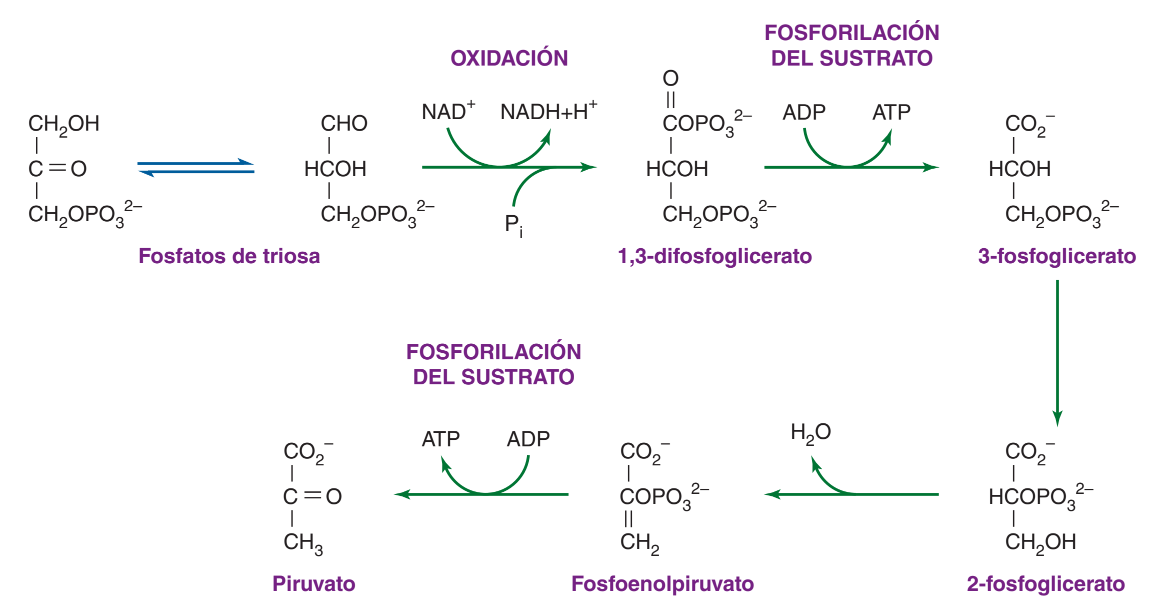


FIGURA 6-7 Formación de fosfoenolpiruvato y de piruvato a partir de fosfatos de triosa. La figura llama la atención a dos sitios de fosforilación del sustrato y a un paso oxidativo que da origen a la reducción de NAD$^+$ a NADH. La repetición de esta vía productora de energía demanda un mecanismo de oxidación para NADH a NAD$^+$. Los microorganismos fermentadores logran este objetivo al utilizar piruvato o metabolitos derivados del piruvato como oxidantes.

a piruvato. Este es un proceso oxidativo y en ausencia de un aceptor exógeno de electrones, el NADH generado por la oxidación de gliceraldehído 3-fosfato debe oxidarse a NAD$^+$ por medio de piruvato o por metabolitos derivados a partir del piruvato. Los productos formados como consecuencia de este proceso varían y se describen más tarde en este capítulo y pueden utilizarse en la identificación de bacterias de importancia clínica.

La formación de fosfoenolpiruvato a partir de piruvato requiere cantidades sustanciales de energía metabólica e invariablemente en el proceso se invierten dos enlaces anhídrido de ATP. Algunos microorganismos (p. ej., *Escherichia coli*) producen directamente la fosforilación del piruvato con ATP, dando origen a AMP y fosfato inorgánico (P_i). Otros organismos utilizan dos pasos metabólicos: se invierte un enlace de pirofosfato de ATP en la carboxilación del piruvato a oxaloacetato y un segundo enlace de pirofosfato (a menudo donado por GTP en vez de ATP) para generar fosfoenolpiruvato a partir de oxaloacetato.

Formación y utilización de oxaloacetato

Como se describió antes, muchos organismos producen oxaloacetato por una carboxilación de piruvato dependiente de ATP. Otros organismos, como *E. coli*, que forman fosfoenolpiruvato directamente a partir de piruvato, sintetizan oxaloacetato por carboxilación de fosfoenolpiruvato.

La succinil-CoA es necesaria como precursor biosintético para la síntesis de porfirinas y de otros compuestos esenciales. Algunos organismos forman succinil-CoA por la reducción de oxaloacetato a través de malato y fumarato. Estas reacciones representan un flujo metabólico invertido que se observa en el ciclo del ácido tricarboxílico (fig. 6-10).

Formación de cetoglutarato α a partir de piruvato

Las conversiones de piruvato a cetoglutarato α requieren de una vía metabólica que diverge y más tarde converge (fig. 6-8). En una vía, se forma oxaloacetato por carboxilación de piruvato o fosfoenolpiruvato. En la otra vía, se oxida el piruvato a acetil-CoA. Cabe hacer notar que, sin importar el mecanismo enzimático utilizado para la formación de oxaloacetato, se necesita acetil-CoA como efector metabólico positivo para este proceso. Así, la síntesis de oxaloacetato se equilibra con la producción de acetil-CoA. La condensación de oxaloacetato con acetil-CoA da origen a la formación de citrato. La isomerización de la molécula de citrato produce isocitrato, el cual sufre descarboxilación oxidativa para dar origen a cetoglutarato α.

VÍAS DE ASIMILACIÓN

Crecimiento con acetato

El acetato se metaboliza a través de acetil-CoA, y muchos organismos poseen la capacidad de formar acetil-CoA (fig. 6-9). La molécula de acetil-CoA se utiliza para la biosíntesis de cetoglutarato α y en la mayor parte de los organismos con mecanismos respiratorios, los fragmentos acetilo de acetil-CoA sufren oxidación completa a dióxido de carbono a través del ciclo de los ácidos tricarboxílicos (fig. 6-10). La capacidad de utilizar acetato como fuente neta de carbono se limita a unos cuantos microorganismos y plantas. La síntesis neta de precursores biosintéticos a partir de acetato se logra a través de reacciones de acoplamiento del ciclo del ácido tricarboxílico con dos reacciones adicionales catalizadas por isocitrato liasa

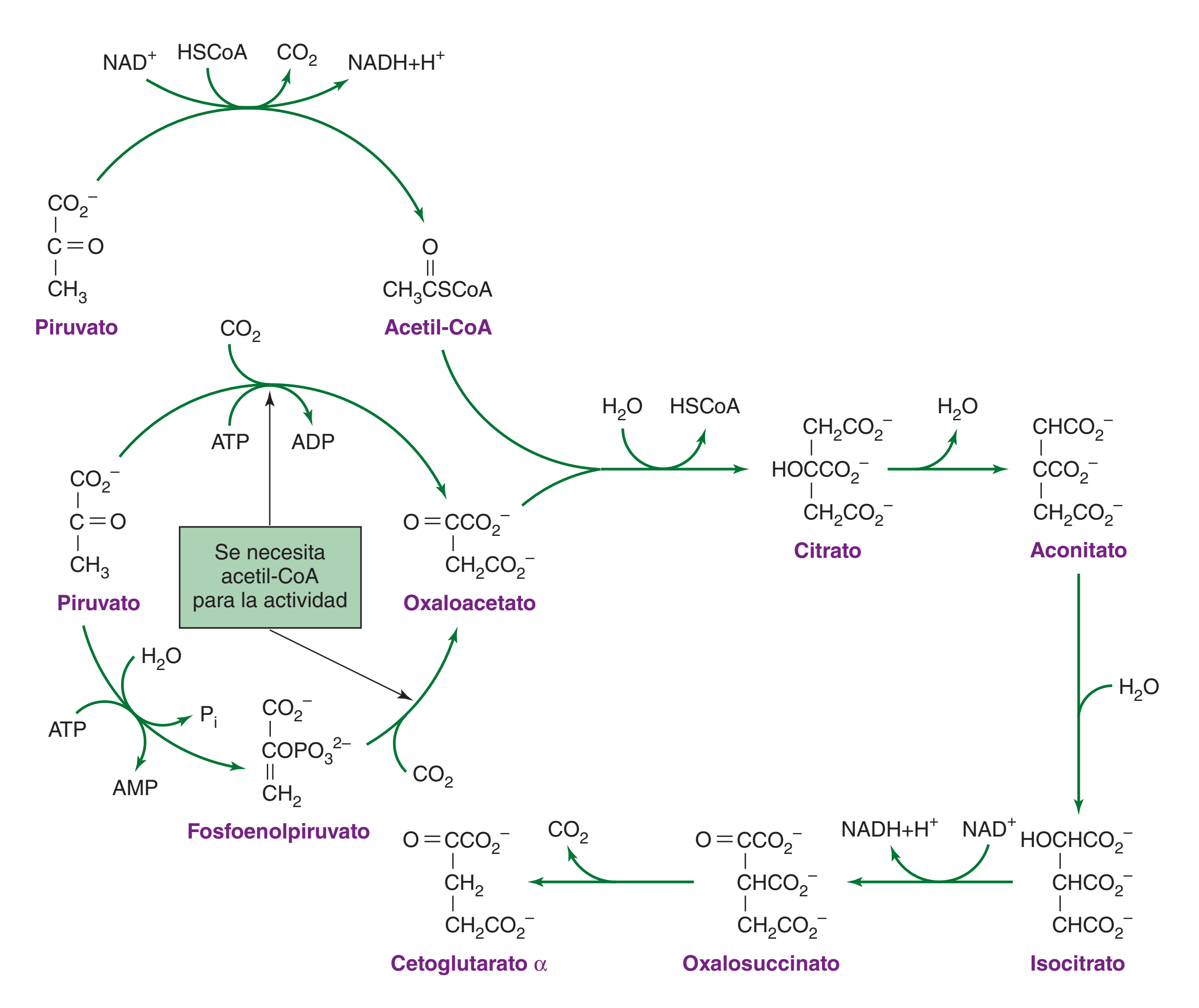


FIGURA 6-8 Conversión de piruvato a cetoglutarato α. El piruvato se convierte a cetoglutarato alfa por una desviación de la vía biosintética. En una dirección, el piruvato se oxida a acetilcoenzima A; en el otro sentido, el piruvato sufre carboxilación a oxaloacetato.

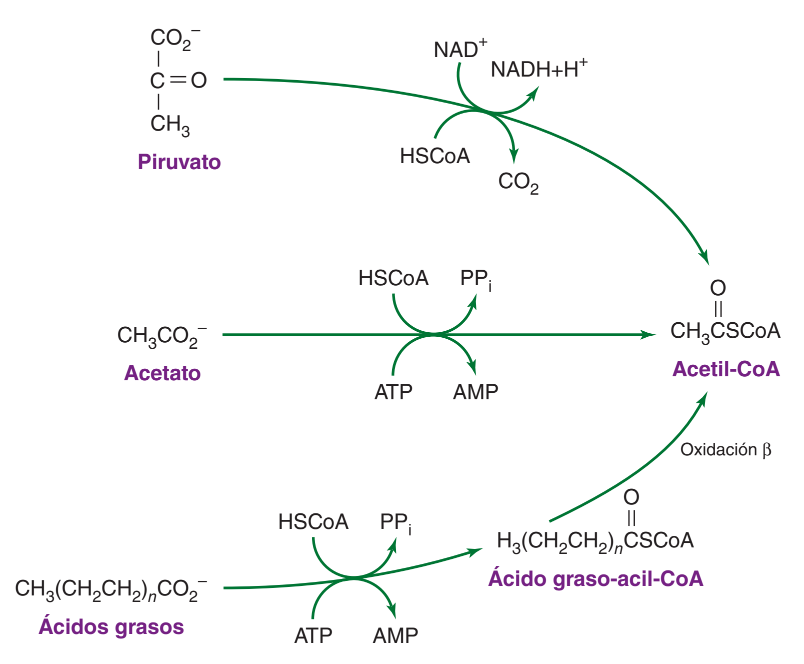


FIGURA 6-9 Fuentes bioquímicas de acetil-CoA.

Acetil-CoA (CH_3CSCoA) → Citrato ($CH_2CO_2^-$ / $HOCCO_2^-$ / $CH_2CO_2^-$) → Aconitato ($CHCO_2^-$ / CCO_2^- / $CH_2CO_2^-$) → Isocitrato ($HOCHCO_2^-$ / $CHCO_2^-$ / $CH_2CO_2^-$) → Oxalosuccinato ($O=CCO_2^-$ / $CHCO_2^-$ / $CH_2CO_2^-$) → Cetoglutarato α ($O=CCO_2^-$ / CH_2 / $CH_2CO_2^-$) → Succinil-CoA (CH_2CSCoA / $CH_2CO_2^-$) → Succinato ($CH_2CO_2^-$ / $CH_2CO_2^-$) → Fumarato ($CHCO_2^-$ / $CHCO_2^-$) → L-malato ($HOCHCO_2^-$ / $CH_2CO_2^-$) → Oxaloacetato ($O=CCO_2^-$ / $CH_2CO_2^-$)

H_2O, HSCoA, H_2O, H_2O, NAD^+, $NADH+H^+$, CO_2, HSCoA, CO_2, NAD^+, NADH + H^+, HSCoA, GTP, GDP, Enz(FAD), Enz($FADH_2$), H_2O, NAD^+, $NADH+H^+$

Reacción neta

Acetil-CoA + $3NAD^+$ + Enz(FAD) + GDP + P_i + $2H_2O$ →
HSCoA + $2CO_2$ + 3NADH + $3H^+$ + Enz($FADH_2$) + GTP

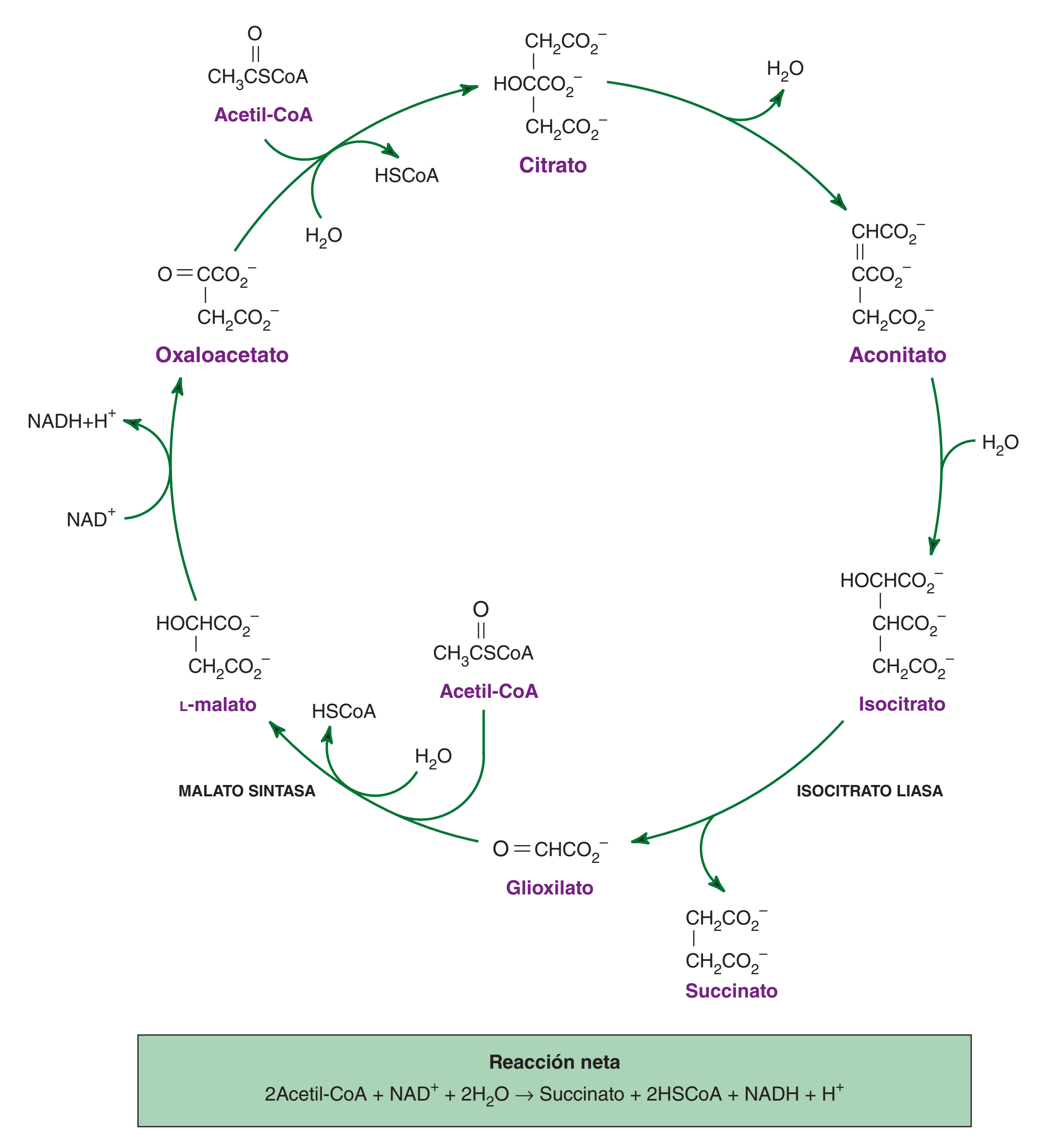
FIGURA 6-10 Ciclo del ácido tricarboxílico. Hay cuatro etapas de oxidación, tres de las cuales dan origen a NADH y una da origen a una flavoproteína reducida, Enz($FADH_2$). El ciclo puede continuar sólo si se dispone de aceptores de electrones para que oxiden el NADH y la flavoproteína reducida.

y malato sintasa. Como se muestra en la figura 6-11, estas reacciones permiten la conversión oxidativa *neta* de dos radicales acetilo a partir de acetil-CoA a una molécula de succinato. El succinato puede utilizarse con fines biosintéticos después de su conversión a oxaloacetato, cetoglutarato α, fosfoenolpiruvato o glucosa 6-fosfato.

Crecimiento con dióxido de carbono: ciclo de Calvin

Al igual que las plantas y algas, varias especies microbianas pueden utilizar dióxido de carbono como única fuente de carbono. En casi todos estos organismos, la vía primaria de asimilación de carbono es a través del ciclo de Calvin, en el cual el dióxido de carbono y difosfato de ribulosa se combinan para formar dos moléculas de 3-fosfoglicerato (fig. 6-12A). El 3-fosfoglicerato sufre fosforilación a 1,3-difosfoglicerato y este compuesto se reduce a gliceraldehído 3-fosfato, un derivado triosa. Las reacciones de la disposición de carbohidratos (fig. 6-5) permiten que los fosfatos de triosa se conviertan a ribulosa 5-fosfato, un derivado pentosa, el cual sufre fosforilación para regenerar la molécula aceptora, ribulosa 1,5-difosfato (fig. 6-12B). El carbono adicional reducido, formado por la asimilación de reducción del dióxido de carbono, se convierte a metabolitos focales para las vías de biosíntesis.

Las células que utilizan dióxido de carbono como única fuente de carbono se denominan **autótrofas** y las demandas para este patrón de asimilación de carbono pueden resumirse brevemente como sigue: además de las reacciones primarias



Reacción neta

$2\text{Acetil-CoA} + NAD^+ + 2H_2O \rightarrow \text{Succinato} + 2\text{HSCoA} + NADH + H^+$

FIGURA 6-11 Ciclo del glioxilato. Nótese que las reacciones que convierten malato a isocitrato se comparten con el ciclo del ácido tricarboxílico (fig. 6-10). La divergencia metabólica al nivel del isocitrato y la acción de dos enzimas, la isocitrato liasa y la malato sintasa, modifican el ciclo del ácido tricarboxílico de forma que por medio de reducción se convierten dos moléculas de acetil-CoA a succinato.

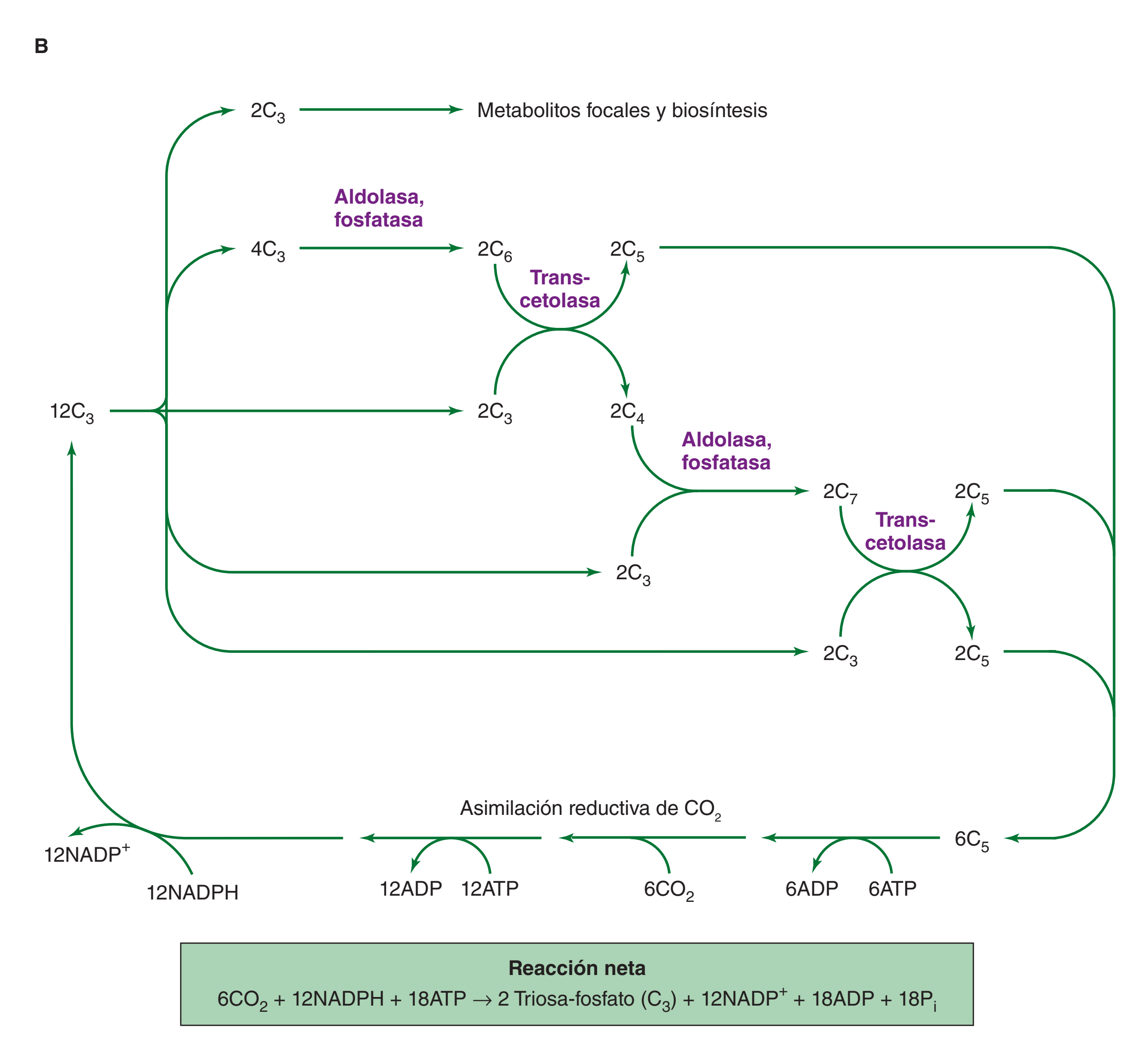


FIGURA 6-12 Ciclo de Calvin. **A:** Asimilación reductiva de CO_2. Se utilizan ATP y NADPH para convertir por medio de reducción la pentosa 5-fosfato (C_5) a dos moléculas de triosa-fosfato (C_3). **B:** El ciclo de Calvin se completa por una redisposición de las reacciones de carbohidratos (fig. 6-5) que permite la síntesis neta de carbohidrato y la regeneración de fosfatos de pentosa de forma que puede continuar el ciclo.

de asimilación que dan origen a 3-fosfoglicerato, debe existir un mecanismo para la regeneración de la molécula aceptora, ribulosa 1,5-difosfato. Este proceso demanda una reducción dependiente de energía del 3-fosfoglicerato hasta el nivel de carbohidrato. Así, para los mecanismos autótrofos se requieren dióxido de carbono, ATP, NADPH y un grupo de enzimas específicas.

Despolimerasas

Muchos sustratos potenciales para el crecimiento se encuentran en forma de bloques de construcción en la estructura de polímeros biológicos. Estas moléculas grandes no se transportan con facilidad a través de la membrana celular y a menudo permanecen fijas a estructuras celulares incluso más grandes. Muchos

microorganismos producen despolimerasas que hidrolizan proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos y lípidos. El patrón de las actividades de despolimerasas pueden ser útiles en la identificación de microorganismos.

Oxigenasas

Muchos compuestos en el medio ambiente son relativamente resistentes a la modificación enzimática; la utilización de estos compuestos como sustratos para el crecimiento demanda una clase especial de enzimas, las oxigenasas. Tales enzimas utilizan directamente el oxígeno molecular, un oxidante potente, como sustrato para las reacciones que convierten compuestos relativamente intratables a una forma en la cual pueden asimilarse, lo que es favorecido por reacciones termodinámicas. En la figura 6-13 se ilustra la acción de las oxigenasas y se muestra la participación de dos oxigenasas diferentes en la utilización del benzoato.

Vías de reducción

Algunos microorganismos viven en entornos extremadamente reductores que favorecen reacciones químicas que no ocurrirían en organismos que utilizan oxígeno como aceptor de electrones. En estos organismos, pueden utilizarse reductores potentes para favorecer reacciones que permitan la asimilación de compuestos relativamente intratables. Un ejemplo es la asimilación por reducción del benzoato, un proceso en el cual el anillo aromático sufre reducción y se rompen sus enlaces para dar origen a pimelato de ácido dicarboxílico. Reacciones metabólicas adicionales convierten el pimelato a metabolitos focales.

Asimilación de nitrógeno

La asimilación reductiva de nitrógeno molecular, también conocida como **fijación de nitrógeno** es necesaria para la continuación de la vida en este planeta. La fijación de nitrógeno se logra por diversas bacterias y cianobacterias utilizando varios componentes del **complejo enzimático de nitrogenasas**. Pese a los diversos microorganismos capaces de fijar nitrógeno, el complejo de nitrogenasas es similar en la mayor parte de ellos (fig. 6-14). La nitrogenasa es un complejo de dos enzimas: una enzima contiene hierro (dinitrogenasa reductasa) y otra contiene hierro y molibdeno (dinitrogenasa). En conjunto, estas enzimas catalizan la siguiente reacción:

$$N_2 + 6H^+ + 6e^- + 12ATP \longrightarrow 2NH_3 + 12ADP + 12P_i$$

Por la alta energía de activación para el desdoblamiento del triple enlace, que es muy fuerte y que une los dos átomos de nitrógeno, esta asimilación de reducción de nitrógeno demanda una cantidad sustancial de energía metabólica. Se hidrolizan entre 20 y 24 moléculas de ATP para que se reduzca una sola molécula de N_2 a dos moléculas de NH_3.

Demandas fisiológicas adicionales dependen del hecho de que la nitrogenasa se desactiva con facilidad en presencia de oxígeno. Los microorganismos anaerobios que utilizan nitrogenasa han desarrollado un elaborado mecanismo para proteger la enzima contra la desactivación. Algunos organismos crean células especializadas en las cuales tienen lugar la fijación de nitrógeno y en otras se ha desarrollado una cadena de transporte de electrones para proteger las nitrogenasas contra la desactivación por el oxígeno. Las baterías de mayor importancia en la agricultura son las Rhizobiaceae, que fijan nitrógeno en forma simbiótica en nódulos de la raíz de plantas leguminosas.

La capacidad de utilizar amoniaco como fuente de nitrógeno se encuentra ampliamente distribuida entre los microorganismos. El sitio primario de entrada del nitrógeno en el metabolismo del carbono es el glutamato, el cual se forma por aminación reductiva de cetoglutarato α. Como se muestra en la figura 6-15, hay dos mecanismos bioquímicos por los cuales puede llevarse esto a cabo. El primero de ellos, es la reducción en un solo paso catalizada por la glutamato deshidrogenasa (fig. 6-15A), la cual es eficaz en ambientes en los cuales existe un suministro amplio de amoniaco. El otro mecanismo es un proceso de dos pasos en el cual la glutamina es un producto intermedio (fig. 6-15B), que se utiliza en ambientes con escacez de suministro de amoniaco. Este último mecanismo muestra que las células invierten energía libre formada por la hidrólisis de enlaces de pirofosfato en el ATP para la asimilación de amoniaco del medio ambiente.

El nitrógeno amida de la glutamina es un intermediario en el proceso de asimilación de dos pasos del amoniaco a glutamato (fig. 6-15B) el cual se transfiere directamente en el nitrógeno orgánico que aparece en las estructuras de purinas, pirimidinas, arginina, triptófano y glucosamina. La actividad y síntesis de la glutamina sintasa está regulada por el suministro de amoniaco

FIGURA 6-13 Participación de las oxigenasas en la utilización aeróbica de benzoato como fuente de carbono. El oxígeno molecular participa directamente en las reacciones que rompen el anillo aromático de benzoato y catecol.

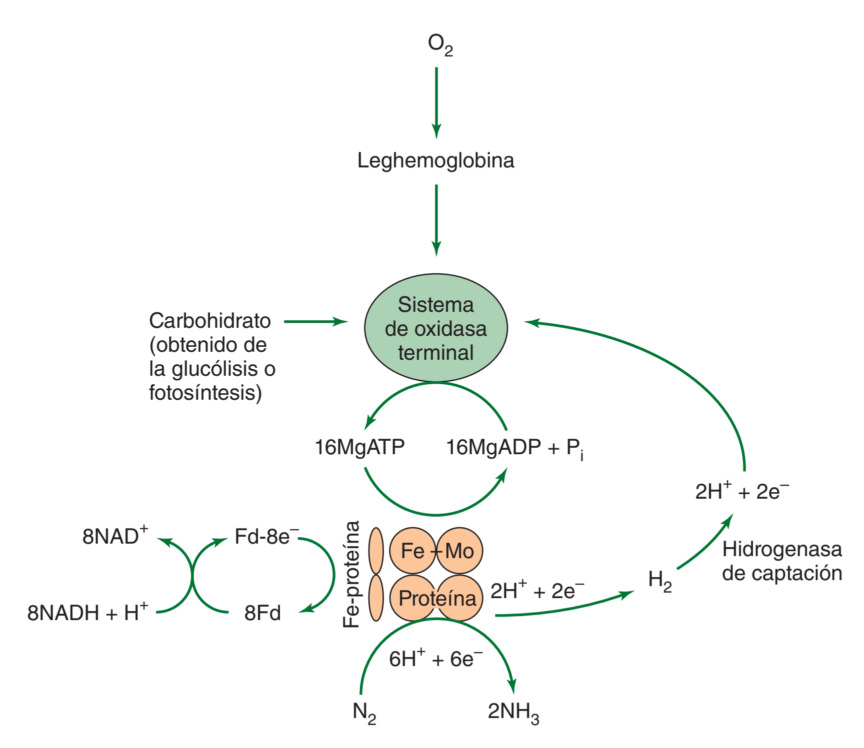


FIGURA 6-14 Reducción de N_2 a dos moléculas de NH_3. Además de ser reductora, la reacción de nitrogenasa requiere cantidades sustanciales de energía metabólica. Se desconoce el número de moléculas de ATP necesarias para la reducción de una sola molécula de nitrógeno a amoniaco; la cifra parece encontrarse entre 12 y 16. La reacción general necesita 8 NADH + H^+. Seis de estas moléculas se utilizan para reducir N_2 a $2NH_3$ y dos se utilizan para la síntesis de H_2. La hidrogenasa de captación regresa H_2 al sistema, con lo que se conserva la energía. (Redibujada y reproducida con autorización de Moat AG, Foster JW: *Microbial Physiology*, 4th ed. Wiley-Liss, 2002. Reimpresa con autorización de John Wiley & Sons, Inc.)

y por la disponibilidad de metabolitos que contengan nitrógeno derivado directamente del nitrógeno amida de la glutamina.

La mayor parte del nitrógeno orgánico en las células se deriva del grupo amino α del glutamato y la **transaminación** es el mecanismo principal por el cual se transfiere el nitrógeno. El aceptor habitual en estas reacciones es un cetoácido α, que se transforma al aminoácido α correspondiente. El cetoglutarato α es otro producto de reacciones de transaminación y puede convertirse en glutamato por aminación reductiva.

VÍAS BIOSINTÉTICAS

Seguimiento de las estructuras de precursores biosintéticos: glutamato y aspartato

En muchos casos, los esqueletos de carbono de un producto metabólico terminal pueden rastrearse hasta sus orígenes biosintéticos. La glutamina es un ejemplo obvio que se deriva claramente del glutamato (fig. 6-16). El esqueleto del glutamato en la estructura de arginina y prolina (fig. 6-16) es menos obvio pero se identifica con facilidad. De la misma forma, el esqueleto de carbono del aspartato, que se deriva directamente del metabolito focal oxaloacetato, es evidente en las estructuras de asparagina, treonina, metionina y pirimidinas (fig. 6-17). En algunos casos, diferentes esqueletos de carbono se combinan en una vía sintética. Por ejemplo, el semialdehído de aspartato y el piruvato se combinan para dar origen a precursores metabólicos de lisina, ácido diaminopimélico y ácido dipicolínico (fig. 6-18). Los dos últimos compuestos se encuentran sólo en células procariotas. El ácido diaminopimélico es componente del peptidoglucano en la pared celular, en tanto que el ácido dipicolínico constituye un componente importante en las endosporas.

Síntesis de peptidoglucano de la pared celular

En la figura 2-19 se muestra la estructura del peptidoglucano; en la figura 6-19A se muestra una forma simplificada del mecanismo por el cual se sintetiza. La síntesis de peptidoglucano inicia con una síntesis escalonada en el citoplasma de UDP-ácido *N*-acetilmurámico-P-ANCA péptido. La *N*-acetilglucosamina se une en primer lugar al UDP y más tarde se convierte a UDP-ácido *N*-acetilmurámico por condensación con fosfoenolpiruvato y reducción. Los aminoácidos del P-ANCA péptido se añaden de manera secuencial, con cada adición catalizada por una enzima diferente y cada una participando en el desdoblamiento de ATP a ADP + P_i.

El complejo UDP-ácido *N*-acetilmurámico-pentapéptido se une al bactoprenol (un lípido de la membrana celular) y recibe una molécula de *N*-acetilglucosamina de UDP. Algunas bacterias (p. ej., *Staphylococcus aureus*) forman un derivado pentaglicina en una serie de reacciones que utilizan glicil-tRNA como donador; el polisacárido completo se polimeriza a un intermediario oligomérico antes de ser transferido al extremo en crecimiento de un polímero de glucopéptido en la pared celular.

Los enlaces cruzados finales (fig. 6-19B) se llevan a cabo por una reacción de transpeptidación en la cual el grupo amino libre de residuos de pentaglicina desplaza el residuo terminal D-alanina del pentapéptido vecino. La transpeptidación es catalizada por un grupo de enzimas denominadas proteínas transportadoras de penicilina (PBP, *penicillin-binding proteins*), que producen la unión covalente de la penicilina y otros antibióticos lactámicos β en forma covalente debido en parte a similitudes estructurales entre estos antibióticos y precursores pentapeptídicos. Algunos PBP tienen actividad de transpeptidasa o carboxipeptidasas, y quizá sus tasas relativas controlan el grado de formación de enlaces cruzados en el peptidoglucano (un factor importante en la tabicación celular).

A. Altas concentraciones de amoniaco

Cetoglutarato α + NH_3 + NADPH → Glutamato + $NADP^+$

B. Bajas concentraciones de amoniaco

Glutamato + ATP + NH_3 → Glutamina + ADP + P_i

Glutamina + Cetoglutarato alfa + NADPH → Dos moléculas de glutamato + $NADP^+$

FIGURA 6-15 Mecanismos para la asimilación de NH_3. **A:** Cuando la concentración de NH_3 es elevada, las células tienen la capacidad de asimilar el compuesto a través de reacciones de glutamato deshidrogenasa. **B:** Cuando la concentración de NH_3 es baja (el caso más común) las células acoplan las reacciones de glutamina sintasa y de glutamato sintasa a fin de invertir la energía producida por la hidrólisis de enlaces de pirofosfato para la asimilación de amoniaco.

La vía biosintética es de particular importancia en la medicina, porque proporciona la base para la acción antibacteriana selectiva de los fármacos quimioterapéuticos. A diferencia de las células hospedadoras, las bacterias no son isotónicas con los líquidos corporales. Su contenido se encuentra bajo altas presiones osmóticas y su viabilidad depende de que se conserve la integridad de la capa de peptidoglucano en la pared celular a lo largo del ciclo celular. Cualquier compuesto que inhiba algún paso en la biosíntesis de peptidoglucano ocasiona que la pared de la célula bacteriana en crecimiento se debilite con destruc-

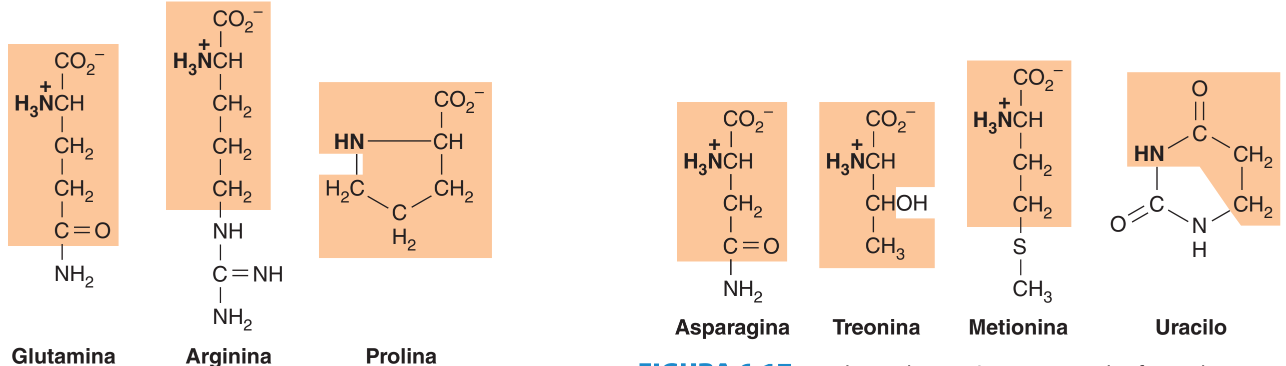


FIGURA 6-16 Aminoácidos formados a partir de glutamato.

FIGURA 6-17 Productos biosintéticos terminales formados a partir de aspartato.

FIGURA 6-18 Productos biosintéticos terminales formados a partir de semialdehído de aspartato y piruvato.

ción subsiguiente de la célula. En la figura 6-19A y B se muestran los sitios de acción de varios antibióticos.

Síntesis de los lipopolisacáridos de la envoltura celular

En la figura 2-20 se muestra la estructura general de los lipopolisacáridos antigénicos de la envoltura celular de bacterias gramnegativas. La biosíntesis de grupos terminales de repetición proporciona a la envoltura celular su especificidad antigénica y se muestra en la figura 6-20. Obsérvese la similitud con la síntesis de peptidoglucano: en ambos casos un grupo de subunidades se unen con un líquido transportador en la membrana y más tarde son transferidos al extremo del polímero en crecimiento.

Síntesis de polímeros capsulares extracelulares

Los polímeros capsulares, de los cuales se enumeran unos cuantos ejemplos en el cuadro 2-1, se sintetizan por medios enzimáticos a partir de subunidades activas. No se ha implicado en este proceso a transportadores de lípidos unidos a la membrana. La presencia de una cápsula a menudo está determinada por situaciones ambientales: por ejemplo, los dextranos y levanos sólo pueden sintetizarse al utilizar el disacárido sacarosa (fructosa-glucosa) como la fuente de la subunidad apropiada y, por tanto, su síntesis depende de la presencia de sacarosa en el medio.

Síntesis de gránulos alimenticios de reserva

Cuando los nutrientes están presentes en cantidades excesivas con respecto a las necesidades para crecimiento, las bacterias convierten algunos nutrientes a gránulos alimenticios de reserva. Los principales incluyen almidón, glucógeno, poli-β-hidroxibutirato y volutina, que consiste principalmente de polifosfato inorgánico (cap. 2). El tipo de gránulo formado es específico para una especie dada. Los gránulos sufren degradación cuando hay agotamiento de los nutrientes exógenos.

PATRONES MICROBIANOS DEL METABOLISMO PARA LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA

Como se menciona en el capítulo 5, hay dos mecanismos metabólicos principales para la generación de enlaces de pirofosfato ácido ricos en energía en el ATP: **fosforilación del sustrato** (transferencia directa de enlaces de fosfato anhídrido a partir de un donador orgánico para el ADP) y la fosforilación de ADP por un fosfato inorgánico. Esta última reacción es desfavorable desde el punto de vista energético y debe ser estimulada por un gradiente electroquímico transmembrana, la **fuerza motriz protónica**. En la respiración el gradiente electroquímico se crea a partir de oxidantes y reductores proporcionados del medio externo. La energía liberada por transferencia de electrones de sustancias reductoras a oxidantes a través de transportadores unidos a la membrana se acopla para la formación de un gra-

1 Se sintetizan derivados UDP de NAM y NAG (no se muestra).

2 Adición secuencial de aminoácidos a UDP-NAM para formar el complejo NAM-pentapéptido. Se utiliza ATP para favorecer la reacción, pero no participan el RNA y los ribosomas en la formación de enlaces peptídicos que unen los aminoácidos.

3 El complejo NAM-pentapéptido se transfiere al fosfato de bactoprenol. Se unen por medio de enlaces de pirofosfato.

4 El UDP transfiere NAG al complejo bactoprenol-NAM-pentapéptido. Si se requiere la interposición de pentaglicina, se crea utilizando moléculas especiales de glicil-tRNA, pero no ribosomas. La formación de puentes ocurre en la membrana.

5 Los transportadores de bactoprenol transportan las unidades repetidas del complejo NAG-NAM pentapéptido a través de la membrana.

A

UDP—NAM
L-Ala
D-Glu
L-Lys (DAP)
D-Ala—D-Ala
L-Ala
D-Ala
Cicloserina
UDP—NAM—Pentapéptido
Citoplasma
P
Pi
UMP
3
Lípido I
Pentapéptido
P P — NAM
UDP—NAG
UDP
4
Lípido II
Pentapéptido
P P —NAM—NAG
Bactoprenol
Bactoprenol
Bactoprenol
Bacitracina
7
Membrana
5
Bactoprenol
Bactoprenol
Periplasma
P P
Peptidoglucano — NAM—NAG
Pentapéptido
6
Vancomicina
Peptidoglucano
P P —NAM—NAG
Pentapéptido

8 Los enlaces cruzados entre las cadenas de peptidoglucano se forman por transpeptidación (no se muestran).

7 El bactoprenol transportador se desplaza a través de la membrana. Conforme lo hace, pierde un fosfato. Ahora está preparado para iniciar un nuevo ciclo.

6 El complejo NAG-NAM pentapéptido se une al extremo en crecimiento de la cadena de peptidoglucano, incrementando la longitud de la cadena en repeticiones de una unidad.

B

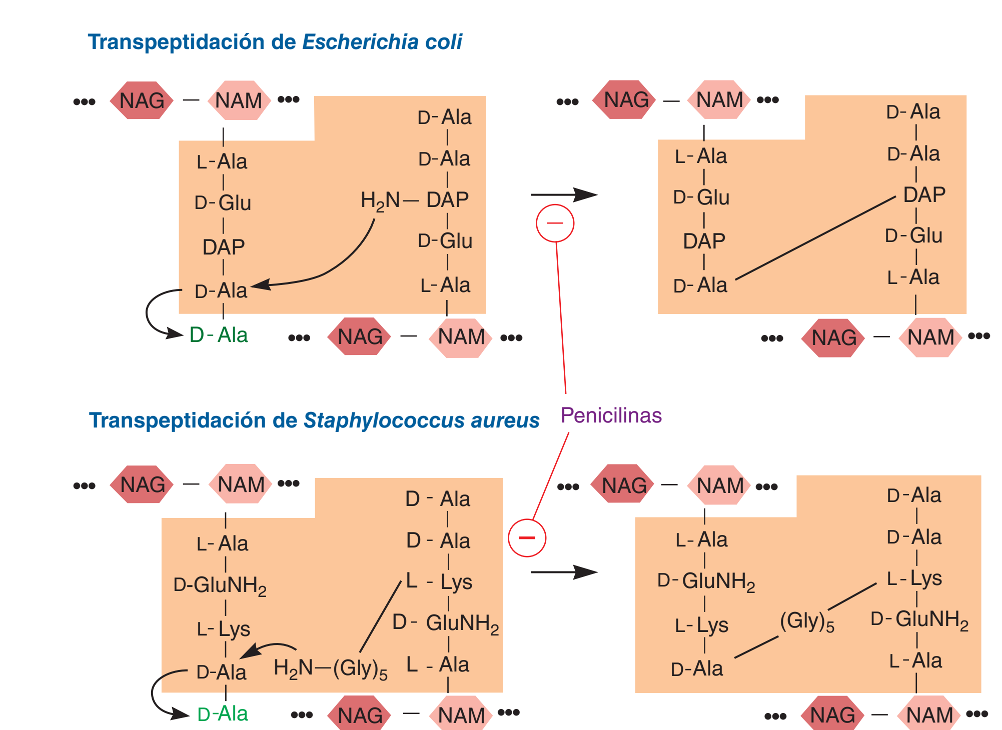


FIGURA 6-19 **A:** Síntesis de peptidoglucano. NAM corresponde a ácido *N*-acetilmurámico y NAG a *N*-acetilglucosamina. Los pentapéptidos contienen L-lisina en el peptidoglucano de *Staphylococcus aureus* y ácido diaminopimélico (DAP) en *Escherichia coli*. También se muestra la inhibición con bacitracina, cicloserina y vancomicina. Los números corresponden a seis de las ocho etapas revisadas en el texto. Se ilustra la etapa ocho en la figura 6-19B. **B:** Transpeptidación. Reacciones de transpeptidación en la formación de peptidoglucanos de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

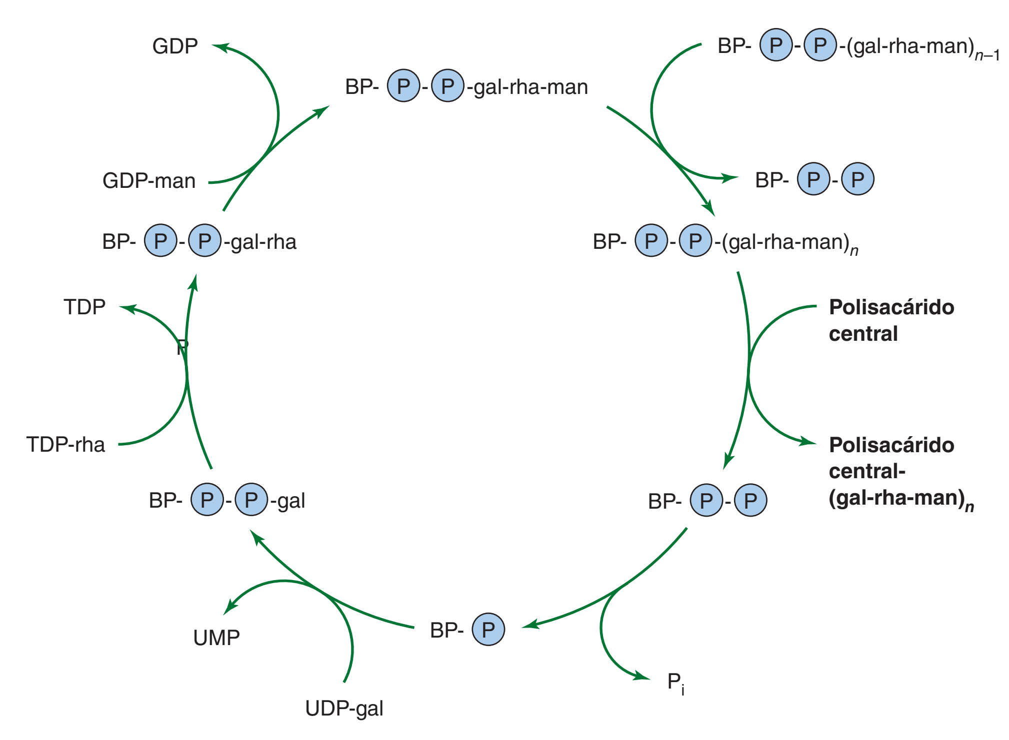


FIGURA 6-20 Síntesis de las unidades de repetición de las cadenas laterales de polisacáridos de *Salmonella newington* y su transferencia a los lipopolisacáridos. BP, bactoprenol.

diente electroquímico transmembrana. En la fotosíntesis, la energía luminosa genera reductores y oxidantes relacionados con la membrana; la fuerza motriz protónica se genera conforme los electrones se transportan de regreso a un estado de equilibrio. Estos procesos se revisan más adelante.

Vías de fermentación

A. Estrategias para la fosforilación del sustrato

En ausencia de respiración o de fotosíntesis, las células dependen por completo de la fosforilación de sustrato para la producción de energía: la generación de ATP debe acoplarse con modificaciones químicas de compuestos orgánicos. Muchos compuestos pueden actuar como sustratos fermentables y para su fermentación varias vías han evolucionado. Estas vías tienen tres etapas generales: 1) conversión de un compuesto fermentable a un donador de fosfato por fosforilación del sustrato. Esta etapa a menudo contiene reacciones metabólicas en las cuales el NAD^+ se reduce a NADH. 2) Fosforilación de ADP por un donador de fosfato rico en energía. 3) Pasos metabólicos que dan origen a productos de la fermentación en equilibrio químico con los materiales iniciales. La necesidad más frecuente en esta última etapa es un mecanismo para la oxidación de NADH, generado en el primer paso de fermentación, a NAD^+, de forma que pueda continuar la fermentación. En la siguiente sección se consideran ejemplos de cada una de las tres etapas de fermentación.

B. Fermentación de la glucosa

La diversidad de las vías de fermentación se ilustra al tomar en consideración algunos de los mecanismos utilizados por los microorganismos para lograr la fosforilación del sustrato a expensas de la glucosa. En principio, la fosforilación de ADP a ATP puede acoplarse para alguna de dos transformaciones químicas equilibradas:

$$\underset{(C_6H_{12}O_6)}{\text{Glucosa}} \longrightarrow 2\ \underset{(C_3H_6O_3)}{\text{Ácido láctico}}$$

o

$$\underset{(C_6H_{12}O_6)}{\text{Glucosa}} \longrightarrow 2\ \underset{(C_2H_6O)}{\text{Etanol}} + 2\ \underset{(CO_2)}{\text{Dióxido de carbono}}$$

Los mecanismos bioquímicos por medio de los cuales ocurren estas transformaciones pueden variar de manera considerable.

En general, la fermentación de la glucosa se inicia por la fosforilación a glucosa 6-fosfato. Hay dos mecanismos por medio de los cuales ocurre esto: 1) la glucosa extracelular puede transportarse a través de la membrana citoplásmica hacia el interior de la célula donde más tarde se fosforila por el ATP para dar origen a glucosa 6-fosfato y ADP. 2) En muchos microorganismos, la glucosa extracelular sufre fosforilación conforme se transporta a través de la membrana citoplásmica por un sistema enzimático que produce la fosforilación extracelular de la glucosa a expensas de fosfoenolpiruvato, dando origen a glucosa 6-fosfato y piruvato intracelulares. Este último proceso es un ejemplo de **metabolismo vectorial**, un grupo de reacciones bioquímicas en las cuales se alteran la estructura y ubicación del sustrato. Cabe hacer notar que la elección de ATP o de fosfoenolpiruvato como agente de fosforilación no altera la cantidad de ATP producido por la fermentación, porque el fosfoenolpiruvato se utiliza como fuente de ATP en etapas avanzadas de la fermentación (fig. 6-7).

C. Vía de Embden-Meyerhof

Esta vía (fig. 6-21) que con frecuencia se encuentra como mecanismo para la fermentación de la glucosa, utiliza una cinasa y una aldolasa (fig. 6-5) para transformar el fosfato de hexosa (C_6) a dos moléculas de fosfato de triosa (C_3). Hay cuatro reacciones de fosforilación del sustrato que acompañan la conversión de la triosa-fosfato a dos moléculas de piruvato. Así, al tomar en consideración los dos enlaces de pirofosfato de ATP necesarios para la formación de triosa-fosfato a partir de glucosa, la vía de Embden-Meyerhof produce una cantidad neta de dos enlaces de pirofosfato de ATP. La formación de piruvato a partir de triosa-fosfato es un proceso oxidativo en el cual se forma NADH en el primer paso metabólico (fig. 6-21) que debe convertirse a NAD^+ para que continúe la fermentación; en la figura 6-22 se ilustran dos mecanismos simples para lograr este objetivo. La reducción directa de piruvato por NADH produce lactato como producto terminal de la fermentación, lo que da origen a la acidificación del medio. El piruvato también puede ser descarboxilado para formar acetaldehído, que más tarde se utiliza para oxidar el NADH, dando origen a la producción del etanol, un producto neutro. La vía tomada depende de los antecedentes

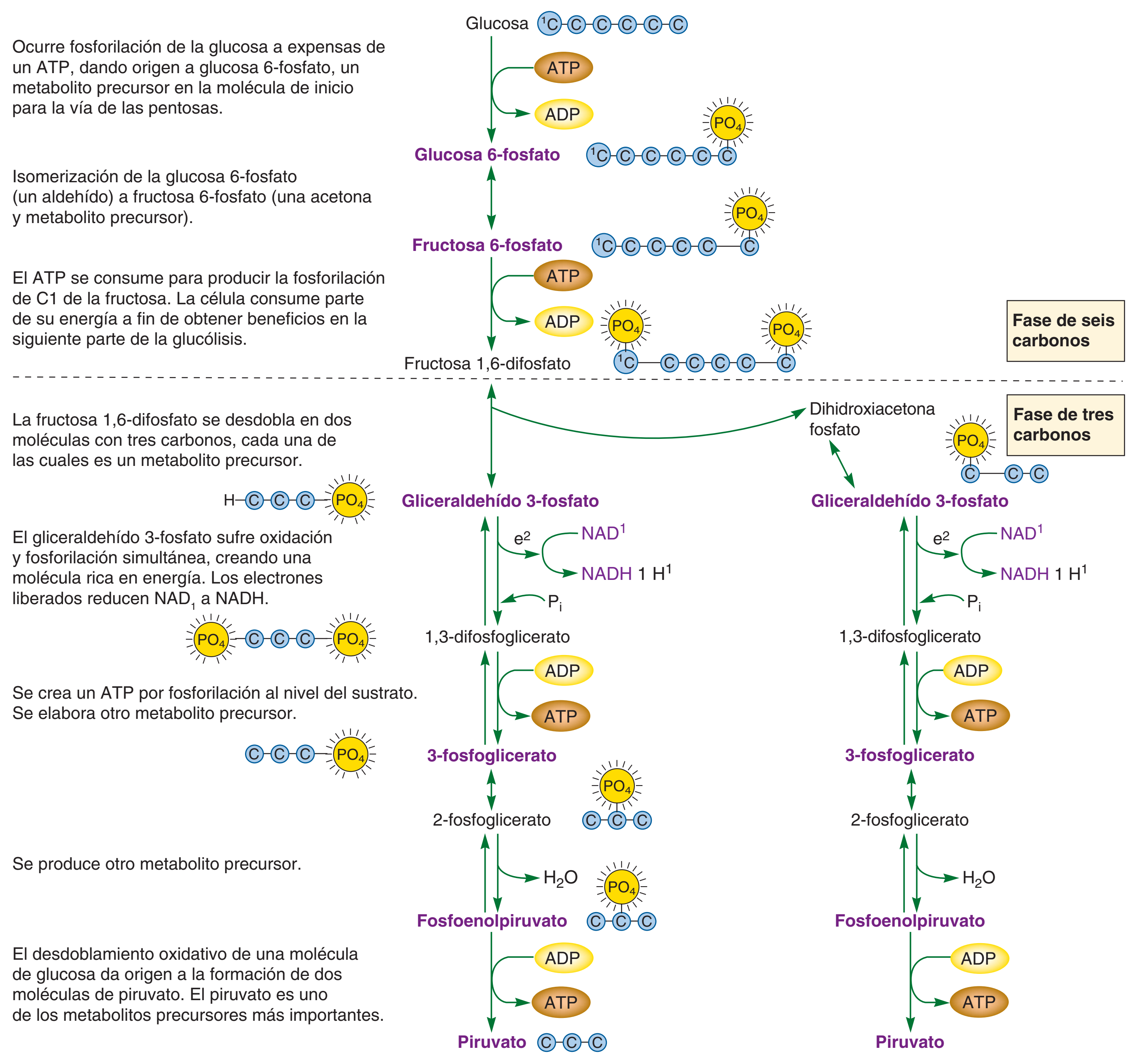


FIGURA 6-21 Vía de Embden-Meyerhof. Ésta es una de tres vías glucolíticas que se utilizan para catabolizar la glucosa a piruvato y puede funcionar durante la respiración aerobia, anaerobia y la fermentación. Cuando se utiliza durante el proceso respiratorio, las moléculas de NAD^+ aceptan los electrones y se transfieren a la cadena de transporte de electrones donde finalmente son aceptadas por un aceptor exógeno de electrones. Cuando se utilizan durante la fermentación, los electrones aceptados por NAD^+ son donados a un aceptor endógeno de electrones (p. ej., piruvato). La vía de Embden-Meyerhof también es una vía anfibólica importante, porque genera varios metabolitos precursores (que se muestran en azul).

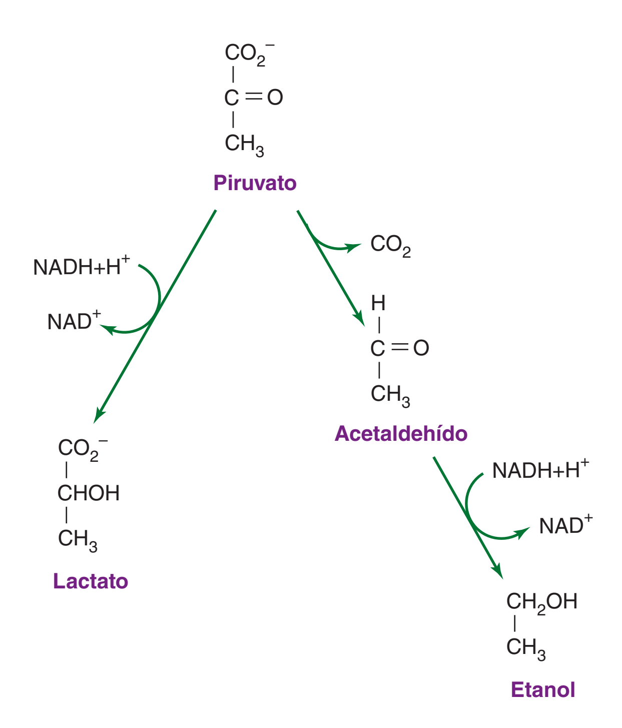


FIGURA 6-22 Dos mecanismos bioquímicos por los cuales el piruvato puede producir oxidación de NADH. **Izquierda:** Formación directa de lactato, lo que da origen a la producción neta de ácido láctico a partir de glucosa. **Derecha:** Formación de productos neutrales como dióxido de carbono y etanol.

evolutivos del organismo y, en algunos microorganismos, de las condiciones de crecimiento.

D. Fermentaciones de Entner-Doudoroff y de heterolactato

Las vías alternativas para la fermentación de glucosa incluyen algunas acciones enzimáticas especializadas, que se muestran en la figura 6-23. La vía de Entner-Doudoroff difiere de otras vías del metabolismo de carbohidratos por una deshidratación de 6-fosfogluconato seguido de una reacción de aldolasa que produce piruvato y triosa-fosfato (fig. 6-23A). La fermentación de heterolactato y algunas otras vías de fermentación dependen de una reacción de fosfocetolasa (fig. 6-23 B) que produce el desdoblamiento fosforolítico de cetosafosfato para producir acetil fosfato y triosa-fosfato. El anhídrido ácido de acetil fosfato puede utilizarse para la síntesis de ATP o puede permitir la oxidación de dos moléculas de NADH a NAD$^+$ como ocurre con la reducción hacia etanol.

En las figuras 6-24 y 6-25 se muestran las generalidades de las vías de Entner-Doudoroff y de heterolactato. Mediante estas vías se produce sólo una molécula de triosa-fosfato a partir de glucosa y por tanto la energía obtenida es baja. A diferencia de la vía de Embden-Meyerhof, las vías de Entner-Doudoroff y heterolactato producen sólo un sustrato neto de fosforilación de ADP por molécula de glucosa fermentada. ¿Por qué se han elegido vías alternativas para la fermentación de glucosa en el ambiente natural? Para responder esta pregunta deben tenerse

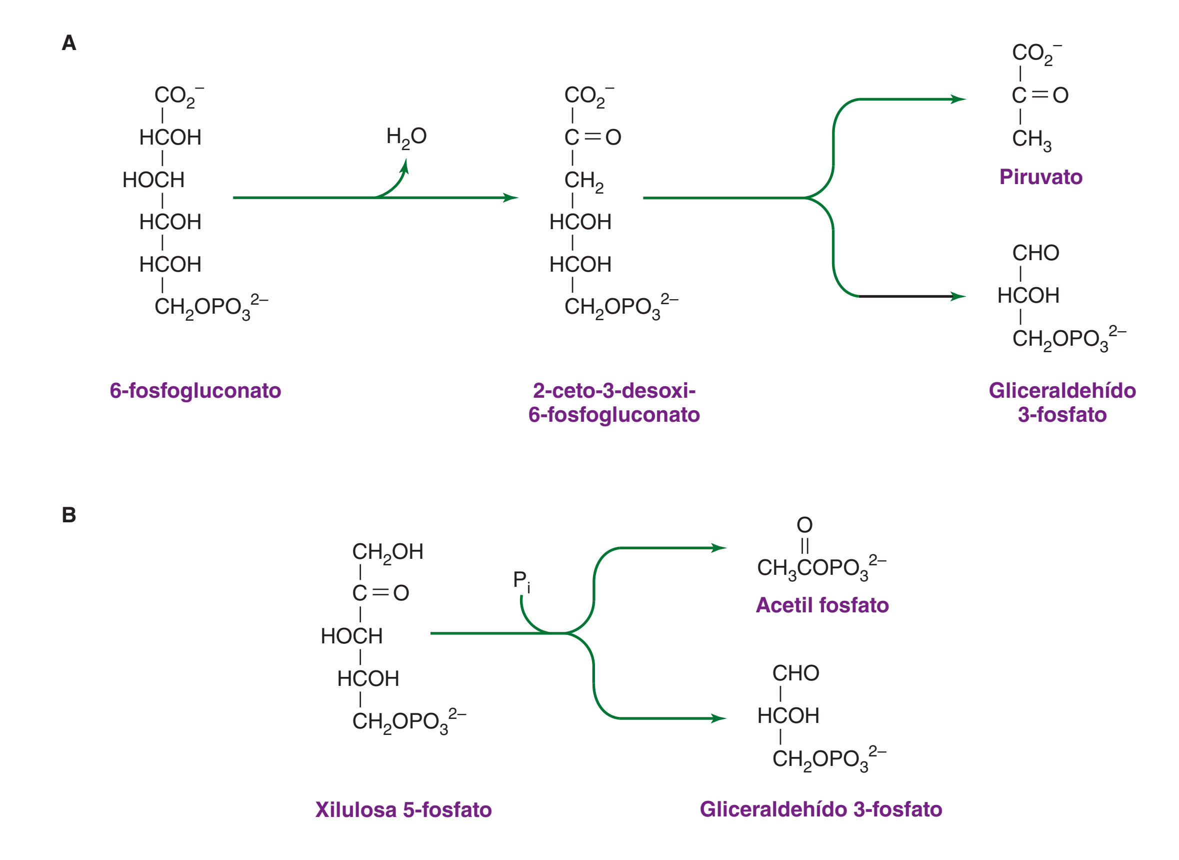


FIGURA 6-23 Reacciones asociadas con vías específicas de la fermentación de carbohidratos. **A:** Reacciones de deshidratasa y aldolasa utilizadas en la vía de Entner-Doudoroff. **B:** Reacción de fosfocetolasa. Esta reacción, que se encuentra en varias vías para la fermentación de carbohidratos, genera la mezcla de ácidos anhídridos acetil fosfato, que pueden utilizarse como sustrato en la fosforilación de ADP.

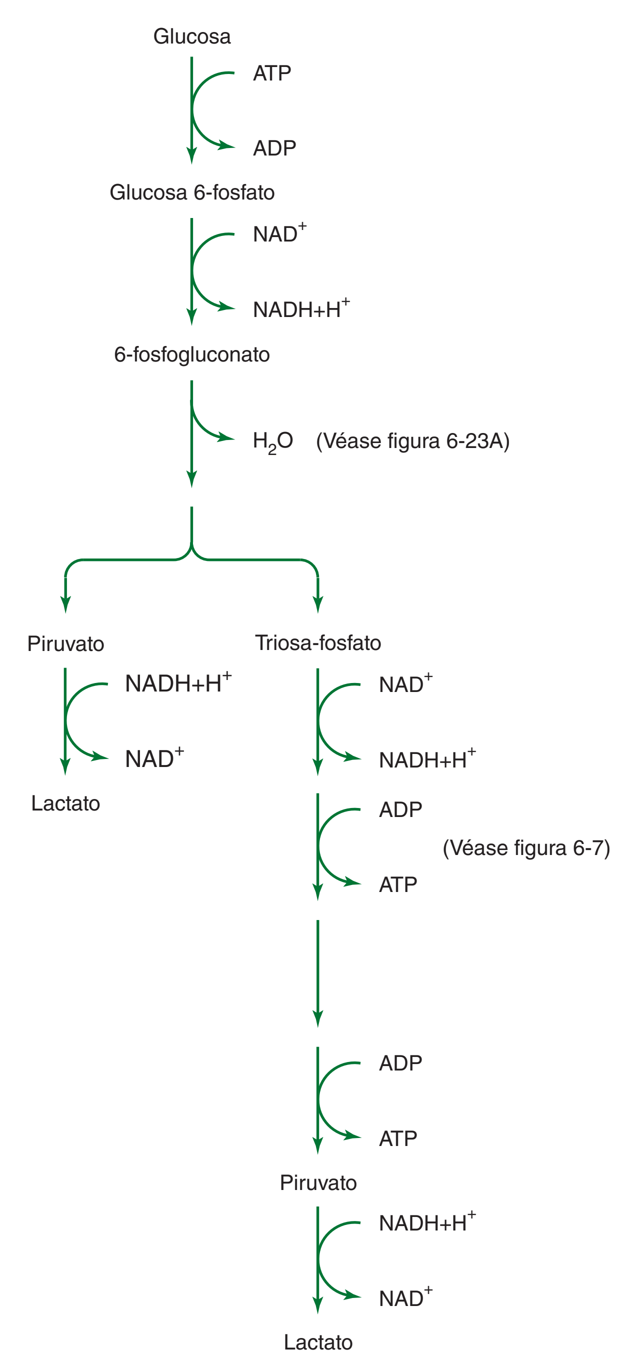


FIGURA 6-24 Vía de Entner-Doudoroff.

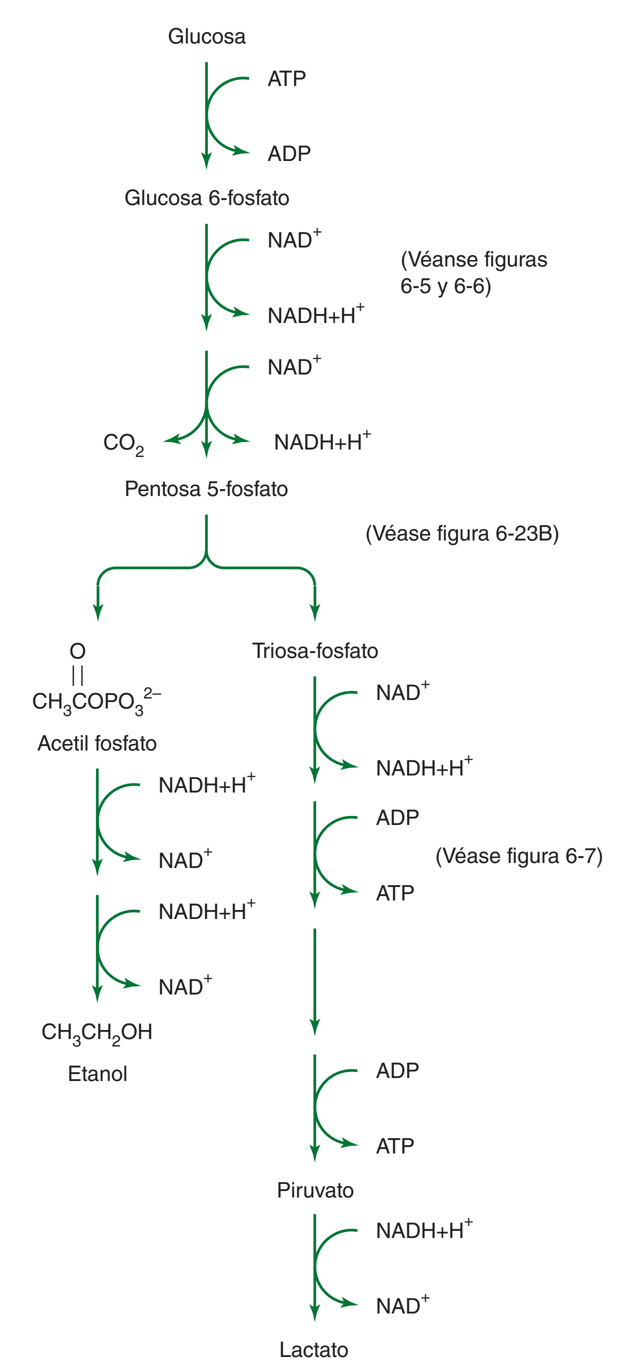


FIGURA 6-25 Fermentación heteroláctica de la glucosa.

en mente dos hechos. En primer lugar, en la competencia directa por la proliferación de dos especies microbianas, la tasa de utilización del sustrato puede ser más importante que la cantidad de crecimiento. En segundo lugar, la glucosa es uno de los varios carbohidratos encontrados por los microorganismos en su ambiente natural. Por ejemplo, las pentosas pueden ser fermentadas con bastante eficiencia a través de la vía de heterolactato.

E. Variaciones adicionales en la fermentación de carbohidratos

Las vías para la fermentación de carbohidratos pueden dar cabida a diversos sustratos que se describen a continuación y los productos terminales pueden ser más diversos de lo que podría sugerirse. Por ejemplo, hay numerosos mecanismos para la oxidación de NADH a expensas de piruvato. Una de tales vías es la formación de succinato por reducción. Muchas bacterias de importancia clínica producen piruvato a partir de la glucosa por medio de la vía de Embden-Meyerhof y deben diferenciarse con base en los productos de reducción formados a partir de piruvato, lo que refleja la constitución enzimática de las diferentes especies. Los principales productos de fermentación, enumerados en el cuadro 6-1, forman la base para muchas pruebas diagnósticas.

F. Fermentación de otros sustratos

Los carbohidratos son el único sustrato susceptible de fermentación. El metabolismo de aminoácidos, purinas y pirimidinas

CUADRO 6-1 Fermentación microbiana con base en la vía de Embden-Meyerhof

Fermentación	Microorganismo	Producto
Etanol	Algunos hongos (sobre todo algunas levaduras)	Etanol, CO_2
Lactato (homofermentación)	*Streptococcus* Algunas bacterias del género *Lactobacillus*	Lactato (explica al menos 90% de la fuente energética de carbono)
Lactato (heterofermentación)	*Enterobacter, Aeromonas, Bacillus polymyxa*	Etanol, acetoína, 2,3-butilenglicol, CO_2, lactato, acetato, formato (ácidos totales = 21 mol[a])
Propionato	*Clostridium propionicum, Propionibacterium, Corynebacterium diphtheriae* Algunas bacterias de los géneros *Neisseria, Veillonella, Micromonospora*	Propionato, acetato, succinato, CO_2
Ácidos mixtos	*Escherichia, Salmonella, Shigella, Proteus*	Lactato, acetato, formato, succinato, H_2, CO_2, etanol (ácidos totales = 159 mol[a])
Butanol-butirato	*Butyribacterium, Zymosarcina maxima* Algunas bacterias del género *Clostridium*	Butanol, butirato, acetona, isopropanol, acetato, etanol, H_2, CO_2

[a] Por 100 mol de glucosa fermentada.

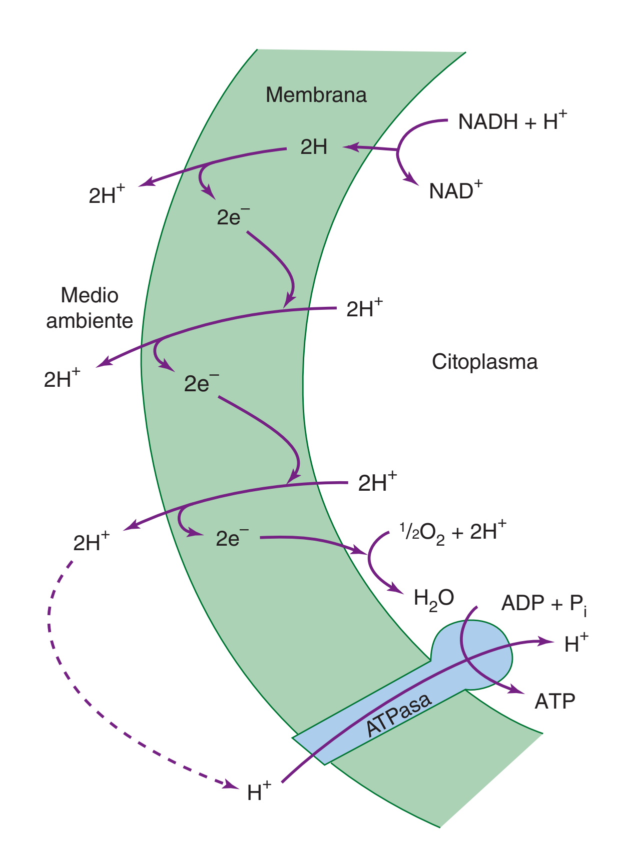


FIGURA 6-26 Acoplamiento del transporte de electrones en la respiración para la generación de ATP. Los movimientos indicados de protones y electrones están mediados por transportadores (flavoproteínas, quinona, citocromos) relacionados con la membrana. El flujo de protones sigue un gradiente electroquímico, a través de la ATPasa de membrana, proporcionando la energía para la generación de ATP a partir de ADP y P_i. Véase el texto para explicaciones.

puede permitir que ocurra la fosforilación del sustrato. Por ejemplo, la arginina puede actuar como fuente energética para dar origen a fosfato de carbamoilo, que puede utilizarse para fosforilar el ADP a ATP. Algunos organismos fermentan pares de aminoácidos, utilizando a uno como donador de electrones en tanto que el otro actúa como aceptor.

Patrones de respiración

La respiración requiere de una membrana cerrada. En las bacterias, la membrana es la membrana celular. Los electrones pasan desde un reductor químico a un oxidante químico a través de un grupo específico de transportadores de electrones en la membrana y como consecuencia se establece la fuerza motriz protónica (fig. 6-26); el retorno de protones a través de la membrana se acopla con la síntesis de ATP. Como se sugiere en la figura 6-26, el reductor biológico para la respiración con frecuencia es NADH y el oxidante a menudo es el oxígeno.

En las fuentes de reductores utilizados para generar NADH se muestra una notable diversidad microbiana y muchos microorganismos pueden utilizar aceptores de electrones diferentes al oxígeno. Los sustratos para el crecimiento orgánico se convierten a metabolitos focales que pueden reducir NAD^+ a NADH ya sea por la vía de monofosfato de hexosa (fig. 6-6) o por el ciclo del ácido tricarboxílico (fig. 6-10). Pueden generarse reductores adicionales durante el desdoblamiento de algunos sustratos de crecimiento, por ejemplo, ácidos grasos (fig. 6-9).

Algunas bacterias, conocidas como **quimiolitótrofas**, son capaces de utilizar reductores inorgánicos para la respiración. Estas fuentes energéticas incluyen hidrógeno, y hierro ferroso y varias formas reducidas de azufre y nitrógeno. El ATP obtenido por la respiración y por el NADPH generado por los reductores puede utilizarse para favorecer el ciclo de Calvin (fig. 6-12). Los iones y compuestos diferentes al O_2 pueden utilizarse como oxidantes terminales en la respiración. Esta capacidad para la **respiración anaerobia** es un rasgo microbiano de amplia distribución. Los aceptores adecuados para los electrones incluyen el nitrato, sulfato y dióxido de carbono. El metabolismo respi-

ratorio que depende de dióxido de carbono como aceptor de electrones es una propiedad que se encuentra en un gran grupo de microbios, las **arqueobacterias**. Los microorganismos de este grupo poseen, por ejemplo, la capacidad de reducir dióxido de carbono a acetato como un mecanismo para la generación de energía metabólica.

Fotosíntesis bacteriana

Los organismos fotosintéticos utilizan energía luminosa para separar la carga electrónica, crear reductores y oxidantes relacionados con la membrana como consecuencia de un evento fotoquímico. La transferencia de electrones de reductores a oxidantes crea una fuerza motriz protónica. Muchas bacterias llevan a cabo el metabolismo fotosintético sin depender en lo absoluto del oxígeno. La energía luminosa se utiliza como fuente de energía metabólica y el carbono para el crecimiento se obtiene ya sea a partir de compuestos orgánicos (**fotoheterótrofos**) o a partir de la combinación de reductores inorgánicos (p. ej., tiosulfato) y dióxido de carbono (**fotolitótrofos**). Estas bacterias poseen un sistema único que, aunque es suficiente para proporcionar energía para la síntesis de ATP y para la generación de gradientes iónicos transmembrana esenciales, no permite la reducción muy exergónica de $NADP^+$ a expensas de agua. Dicho proceso es esencial para la fotosíntesis a partir de oxígeno y depende de la energía adicional suministrada proveniente del acoplamiento de los eventos fotoquímicos diferentes, estimuladas por dos sistemas fotoquímicos independientes. En las células procariotas esta característica se encuentra únicamente en las cianobacterias (bacterias azul-verdosas). Entre los microorganismos eucariotas, el rasgo es compartido por algas y plantas en las cuales el organelo esencial para la producción de energía es el cloroplasto.

REGULACIÓN DE LAS VÍAS METABÓLICAS

En su ambiente normal las células microbianas por lo general regulan sus vías metabólicas de forma que no se produzcan productos intermedios en cantidades excesivas. Cada reacción metabólica es regulada con respecto a las otras en la célula y también con respecto a las concentraciones de nutrientes en el medio ambiente. Así, cuando una fuente de carbono disponible en forma esporádica súbitamente se encuentra en cantidades abundantes, las enzimas necesarias para su catabolismo se incrementan tanto en cantidad como en actividad; por el contrario, cuando un bloque de construcción (p. ej., un aminoácido) se encuentra de manera súbita en cantidades abundantes, las enzimas necesarias para su biosíntesis disminuyen tanto en cantidad como en actividad.

La regulación de la actividad y síntesis enzimáticas proporciona **control fino** y **control grueso** de las vías metabólicas. Por ejemplo, la inhibición de la actividad enzimática por un producto secundario de una vía constituye un mecanismo de control fino, porque el flujo de carbono a través de dicha vía se regula de manera instantánea y con precisión. La inhibición de la síntesis enzimática por el mismo producto terminal constituye un mecanismo de control grueso. Las moléculas preexistentes de enzima continúan funcionando hasta que se diluyen a causa del crecimiento celular adicional, aunque la síntesis proteínica innecesaria se interrumpe de inmediato.

Los mecanismos por los cuales la célula regula la actividad enzimática se revisan en la siguiente sección. En el capítulo 7 se revisa la regulación de la síntesis enzimática.

Regulación de la actividad enzimática

A. Enzimas como proteínas alostéricas

En muchos casos, la actividad de una enzima que cataliza un paso metabólico temprano en la vía metabólica es inhibida por un producto terminal de dicha vía. Sin embargo, tal inhibición no puede depender de competencia por el sustrato enzimático porque la estructura del producto terminal y el intermediario temprano (sustrato) por lo común son bastante diferentes. La inhibición depende de la regulación enzimática **alostérica**: cada enzima posee un sitio catalítico que se une al sustrato y además uno o más sitios que se unen a moléculas reguladoras pequeñas, conocidas como **efectores**. La unión de un efector a su sitio causa un cambio conformacional en la enzima de forma tal que la afinidad del sitio catalítico para el sustrato se reduce (inhibición alostérica) o se incrementa (activación alostérica).

Las proteínas alostéricas por lo común son oligoméricas. En algunos casos las subunidades son idénticas, cada subunidad posee un sitio catalítico y un sitio efector; en otros casos las subunidades son bastante diferentes y un tipo posee sólo un sitio catalítico y la otra sólo un sitio efector.

B. Inhibición por retroalimentación

El mecanismo general por el cual ha evolucionado en los microorganismos la regulación del flujo de carbono a través de vías biosintéticas es el más eficiente que se pueda imaginar. El producto terminal en cada caso produce inhibición alostérica de la actividad de la primera (y sólo de la primera) enzima en la vía metabólica. Por ejemplo, el primer paso en la biosíntesis de isoleucina, que no implica ninguna otra vía, es la conversión de L-treonina a ácido cetobutírico α, que es catalizada por la treonina desaminasa. La treonina desaminasa es inhibida de manera específica y alostérica por la L-isoleucina y por ningún otro compuesto (fig. 6-27); las otras cuatro enzimas de la vía no se ven afectadas (aunque su síntesis puede verse reprimida).

C. Activación alostérica

En algunos casos es ventajoso para la célula y para un producto terminal o producto intermedio activar en lugar de inhibir una enzima en particular. En el desdoblamiento de la glucosa por *E. coli*, por ejemplo, la producción excesiva del intermediario glucosa 6-fosfato y fosfoenolpiruvato ocasiona la desviación de algunas moléculas de glucosa a la vía de síntesis de glucógeno; esto se realiza por la activación alostérica de la enzima que convierte las moléculas de glucosa 1-fosfato a ADP-glucosa (fig. 6-28).

D. Cooperatividad

Muchas enzimas oligoméricas poseen más de un sitio de unión al sustrato y muestran interacciones cooperativas de las moléculas de sustrato. La unión del sustrato con un sitio catalítico incrementa la afinidad de los otros sitios para moléculas adicionales de sustrato. El efecto neto de esta interacción es producir un incremento exponencial en la actividad catalítica en respuesta al incremento aritmético en la concentración de sustrato.

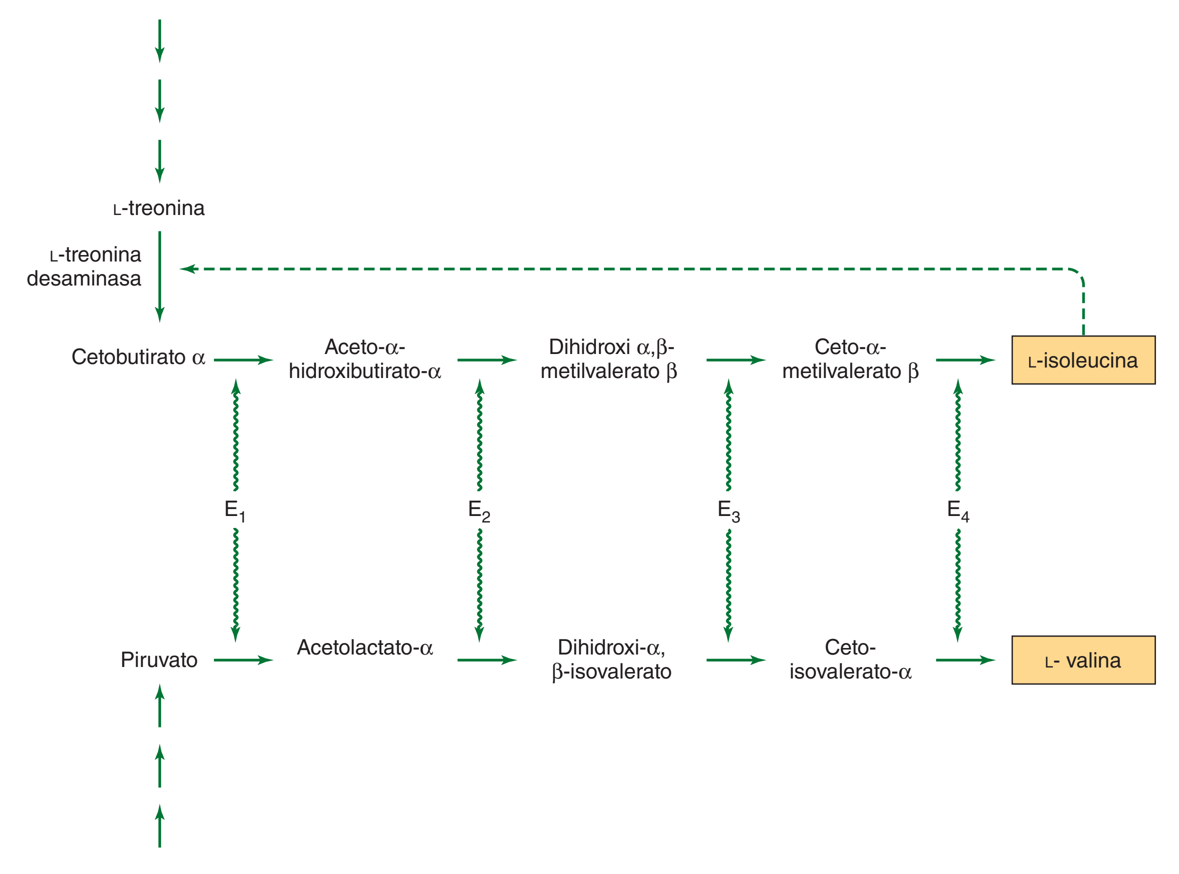


FIGURA 6-27 Inhibición por retroalimentación de la L-treonina desaminasa por la L-isoleucina (*línea punteada*). Las vías para la biosíntesis de isoleucina y valina son mediadas por un grupo común de cuatro enzimas, como se muestra.

Glucosa

Glucosa 6-fosfato

Glucosa monofosfato

ADP-glucosa

Glucógeno

Glucosa 6-fosfato

ADP

Fructosa 1,6-difosfato

3-fosfoglicerato

Fosfoenolpiruvato

AMP

Piruvato

FIGURA 6-28 Regulación de la utilización de glucosa por una combinación de activación alostérica ● e inhibición alostérica ■. (Reproducida con autorización de Stanier RY, Adelberg EA, Ingraham JL: *The Microbial World*, 4th ed. Prentice-Hall, 1976.)

E. Modificación covalente de las enzimas

Las propiedades reguladoras de algunas enzimas se alteran por modificaciones covalentes de la proteína. Por ejemplo, la respuesta de la glutamina sintetasa a los efectores metabólicos se altera por la adenililación, la unión covalente de ATP a una cadena lateral específica de tirosilo con cada subunidad enzimática. Las enzimas que controlan la adenililación también se controlan por modificaciones covalentes. La actividad de otras enzimas se altera por su fosforilación.

F. Desactivación enzimática

La actividad de algunas enzimas se elimina por medio de su hidrólisis. El proceso puede ser regulado y en ocasiones señalado por modificaciones covalentes de las enzimas dirigidas para la eliminación.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿La síntesis de cuál de los siguientes compuestos celulares depende de una plantilla?
   (A) Lipopolisacárido
   (B) Peptidoglucano
   (C) Polisacárido capsular
   (D) Ácido desoxirribonucleico
   (E) Fosfolípidos
2. ¿La síntesis de cuál de los siguientes componentes celulares depende por completo de especificidad enzimática?
   (A) DNA
   (B) DNA ribosómico
   (C) Flagelos
   (D) Lipopolisacárido
   (E) Proteína
3. Los pasos que conducen a la síntesis de peptidoglucanos ocurren en el citoplasma, en la membrana citoplásmica y fuera de la célula. ¿Qué antibióticos inhiben el paso extracelular en la biosíntesis de peptidoglucanos?
   (A) Cicloserina
   (B) Rifampicina
   (C) Penicilina
   (D) Bacitracina
   (E) Estreptomicina
4. Los aminoácidos se encuentran en las proteínas, peptidoglucanos y cápsula bacteriana. ¿Cuál de los siguientes aminoácidos se encuentra en el peptidoglucano?
   (A) L-lisina
   (B) Ácido diaminopimélico
   (C) D-glutamato
   (D) L-alanina
   (E) Ninguno de los anteriores
5. La capacidad de usar iones y compuestos diferentes al oxígeno como oxidantes terminales en la respiración es un rasgo microbiano amplio. Esta capacidad se conoce como
   (A) Fotosíntesis
   (B) Fermentación
   (C) Respiración anaerobia
   (D) Fosforilación de sustrato
   (E) Fijación de nitrógeno

Respuestas

1. D 3. C 5. C
2. D 4. B

BIBLIOGRAFÍA

Atlas RM, Bartha R: *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications,* 4th ed. Benjamin Cummings, 1998.
Downs DM: Understanding microbial metabolism. Annu Rev Microbiol 2006;60:533.
Gibson J, Harwood CS: Metabolic diversity in aromatic compound utilization by anaerobic microbes. Annu Rev Microbiol 2002; 56:345. [PMID: 12142480]
Hillen W, Stülke: Regulation of carbon catabolism in *Bacillus* species. Annu Rev Microbiol 2000;54:849. [PMID: 11018147]
Hurst CJ et al (editors): *Manual of Environmental Microbiology,* 2nd ed. ASM Press, 2002.
Ishihama A: Functional modulation of *Escherichia coli* RNA polymerase. Annu Rev Microbiol 2000;54:499. [PMID: 11018136]
Leigh JA, Dodsworth JA: Nitrogen regulation in bacteria and archaea. Annu Rev Microbiol 2007;61:349.
Maier RM, Pepper IL, Gerba CP: *Environmental Microbiology*. Academic Press, 2000.
Moat AG, Foster JW: *Microbial Physiology,* 4th ed. Wiley-Liss, 2002.
Neidhardt FC et al (editors): *Escherichia coli* and *Salmonella.Cellular and Molecular Biology,* 2nd ed. Vols 1 and 2. ASM Press, 1996.
Peters JW, Fisher K, Dean DR: Nitrogenase structure and function. Annu Rev Microbiol 1995;49:335. [PMID: 8561464]
Roberts IS: The biochemistry and genetics of capsular polysaccharide production in bacteria. Annu Rev Microbiol 1996;50:285. [PMID: 8905082]
Russell JB, Cook GM: Energetics of bacterial growth: Balance of anabolic and catabolic reactions. Microbiol Rev 1995;59:48. [PMID: 7708012]
Schaechter M, Ingraham JL, Neidhardt FC: *Microbe*. ASM Press, 2006.

C A P Í T U L O

7

Genética microbiana

La ciencia de la **genética** define y analiza la **herencia** o la constancia y cambio de una amplia gama de funciones fisiológicas que constituyen las propiedades del organismo. La unidad básica de la herencia es el **gen**, un segmento de ácido desoxirribonucleico (DNA) que codifica en su secuencia de nucleótidos información para propiedades fisiológicas específicas. El método tradicional de la genética ha sido identificar los genes con base en su contribución al **fenotipo** o las propiedades estructurales colectivas y fisiológicas de un organismo. Una propiedad fenotípica podría ser el color de los ojos en los seres humanos o la resistencia a los antibióticos en una bacteria, que por lo general se observan al nivel de cada organismo. La base química para la variación del fenotipo es un cambio en el genotipo o alteración en la secuencia de DNA, en un gen o en la organización de los genes.

En el decenio de 1930 se sugirió la participación del **DNA** como elemento fundamental de la herencia en un experimento realizado por Frederick Griffith. En este experimento (fig. 7-1) destruyó un *Streptococcus pneumoniae* virulento de tipo III-S (poseía una cápsula) cuando se le inyectó a un ratón junto con neumococo vivo pero no virulento de tipo II-R (que carece de cápsula), lo que ocasionó una infección letal en la cual se recuperó el neumococo tipo III-S viable. La implicación fue que algunas entidades químicas transformaron la cepa viva, no virulenta a un fenotipo virulento. Un decenio más tarde, Avery, MacLeod y McCarty descubrieron que el DNA era el agente transformador que constituía la base para la biología molecular como se comprende hoy en día. Investigaciones subsiguientes con bacterias revelaron la presencia de **enzimas de restricción**, proteínas que desdoblan el DNA en sitios específicos, dando origen a **fragmentos de restricción** de DNA. Los **plásmidos** se identificaron como elementos genéticos pequeños que transportan genes y son capaces de replicación independiente en bacterias y levaduras. La introducción de fragmentos de restricción de DNA en un plásmido permite que los fragmentos se amplifiquen varias veces. La amplificación de regiones específicas de DNA también puede lograrse con enzimas bacterianas utilizando la **reacción en cadena de polimerasa** (PCR, *polymerase chain reaction*) u otro método basado en enzimas de amplificación de ácido nucleico. El DNA amplificado por estos medios y digerido con enzimas de restricción apropiadas puede insertarse en plásmidos. Los genes pueden colocarse bajo el control de **promotores** bacterianos de alta expresión, que codifican proteínas que se expresan en concentraciones elevadas. La genética bacteriana ha fomentado el desarrollo de la **ingeniería genética** tanto en células procariotas como eucariotas. Esta tecnología es causante del notable avance en el campo de la medicina que ha ocurrido hoy en día.

ORGANIZACIÓN DE LOS GENES

Estructura de DNA y RNA

La información genética en las bacterias se almacena como una secuencia de **bases de DNA** (fig. 7-2). En bacteriófagos y virus la información genética puede almacenarse como secuencias de **ácido ribonucleico** (RNA) (cap. 29). La mayor parte de las moléculas de DNA son bicatenarias, con **bases complementarias** (A-T; G-C) unidas por enlaces de hidrógeno en el centro de la molécula (fig. 7-3). La orientación de las dos cadenas de DNA es **antiparalela**: una cadena tiene orientación química de 5′→ 3′ y su cadena complementaria sigue una dirección 3′→ 5′. La complementariedad de las bases permite que una cadena (**cadena de plantilla**) proporcione la información para la copia con la expresión de la información en la otra cadena (**cadena de codificación**). Los pares de bases se apilan en el centro de la doble hélice de DNA (fig. 7-2) y determinan la información genética. Cada giro de la hélice tiene un surco mayor y un surco en espejo. Muchas proteínas con la capacidad de unirse al DNA y regular la expresión génica interactúan de manera predominante con el surco mayor, donde los átomos que comprenden las bases se encuentran más expuestos. Cada una de las cuatro bases se une a una fosfo-2′-desoxirribosa para formar un **nucleótido**. El esqueleto fosfodiéster con carga negativa del DNA se encuentra en contacto con el solvente. La longitud de la molécula de DNA por lo común se expresa en miles de pares de bases o **pares de kilobases (kbp)**. Un virus pequeño puede contener una sola molécula de DNA de menos de 0.5 kbp, en tanto que el DNA del genoma que codifica a la *Escherichia coli* tiene más de 4 000 kbp. En cada caso, cada par de bases está separado de la siguiente por casi 0.34 nm o 3.4×10^{-7} mm, de forma que la longitud total del cromosoma de *E. coli* es de casi 1 mm. Las dimensiones generales de la célula bacteriana son en términos generales 1 000 veces más pequeñas que esta longitud, y por tanto es evidente que existe un plegamiento sustancial o **superenrollado**, lo que contribuye a la estructura física de la molécula *in vivo*.

El **RNA** más a menudo se encuentra en forma de una sola tira (monocatenario). La base uracilo (U) sustituye a la timina (T) en el DNA, de manera que las bases complementarias que

Experimento A

Inyección

Ratón → Ratón muerto

Cepa A de bacterias vivas encapsuladas

Experimento B

Inyección

Ratón → Ratón vivo

Cepa A de bacterias encapsuladas muertas

Experimento C

Inyección

Ratón → Ratón vivo

Cepa B de bacterias vivas no encapsuladas

Experimento D

Cepa B de bacterias muertas encapsuladas + Cepa B de bacterias vivas no encapsuladas

Inyección

Ratón → Ratón muerto

Bacterias vivas aisladas del ratón muerto

= Neumococos encapsulados

FIGURA 7-1 Experimento de Griffiths que muestra la evidencia para un factor transformador, más tarde identificado como DNA. En una serie de experimentos, se inyectó a ratones *Streptococcus pneumoniae* vivos o muertos, encapsulados o no encapsulados, como se indica en los experimentos marcados con las letras A a D. El experimento fundamental está marcado con la letra D, en la que se demuestra que las bacterias encapsuladas muertas proporcionan un factor que permite que las bacterias no encapsuladas maten al ratón. Además de proporcionar un sustento fundamental para la importancia de la cápsula en la virulencia de los neumococos, el experimento D también ilustra el principio de que el DNA es la base fundamental para la transformación genética. (Reproducida con autorización de Mietner & McClane, *Microbial Pathogenesis: A Principles-Oriented Approach*, Fence Creek Publishing, 1999.)

determinan la estructura de RNA son A-U y C-G. La estructura general del RNA de una sola cadena depende el pareamiento entre las bases en las cadenas formadoras de asas, con el resultado de que la molécula de RNA de una sola cadena asume una estructura compacta capaz de expresar información genética contenida en el DNA.

La función más general del RNA es la comunicación de la secuencia génica del DNA en forma de **RNA mensajero (mRNA) a los ribosomas**. Este proceso se conoce como **transcripción** y **traducción**. El mRNA se transcribe como complemento del RNA para codificar una cadena de DNA. Este mRNA es traducido por los ribosomas. Los ribosomas contienen **RNA ribosómico (rRNA)** y proteínas, reduciendo este mensaje en la estructura primaria de proteínas a través de **RNA de transferencia (tRNA)**. Las moléculas de RNA varían en tamaño desde RNA pequeñas, que contienen menos de 100 bases hasta mRNA, que pueden transportar mensajes genéticos que se extienden hasta varios miles de bases. Los ribosomas bacterianos contienen tres tipos de rRNA con tamaños respectivos de 120, 1 540 y 2 900 bases y varias proteínas (fig. 7-4). Las moléculas correspondientes de rRNA en los ribosomas de células eucariotas son un poco más grandes. La necesidad para la expresión de genes individuales cambia en respuesta a las demandas fisiológicas y las necesidades para la expresión génica flexible y se reflejan en el intercambio metabólico rápido de la mayor parte de los mRNA. Por otra parte, el tRNA y rRNA (que se asocian con la función de síntesis de proteínas, universalmente necesaria) tienden a encontrarse estables y constituyen en conjunto más de 95% del RNA total en la célula bacteriana. Unas cuantas moléculas de RNA parecen funcionar como enzimas (**ribozimas**). Por ejemplo, el RNA 23S en la subunidad ribosómica 50S (fig. 7-4) cataliza la formación de un enlace peptídico durante la síntesis de proteínas. En fechas recientes, en plantas se describió una nueva clase de moléculas de RNA denominada **RNA pequeño de interferencia** (siRNA). El siRNA consiste en moléculas de RNA bicatenarias, de 20 a 25 nucleótidos de longitud, que desempeñan diversas funciones en

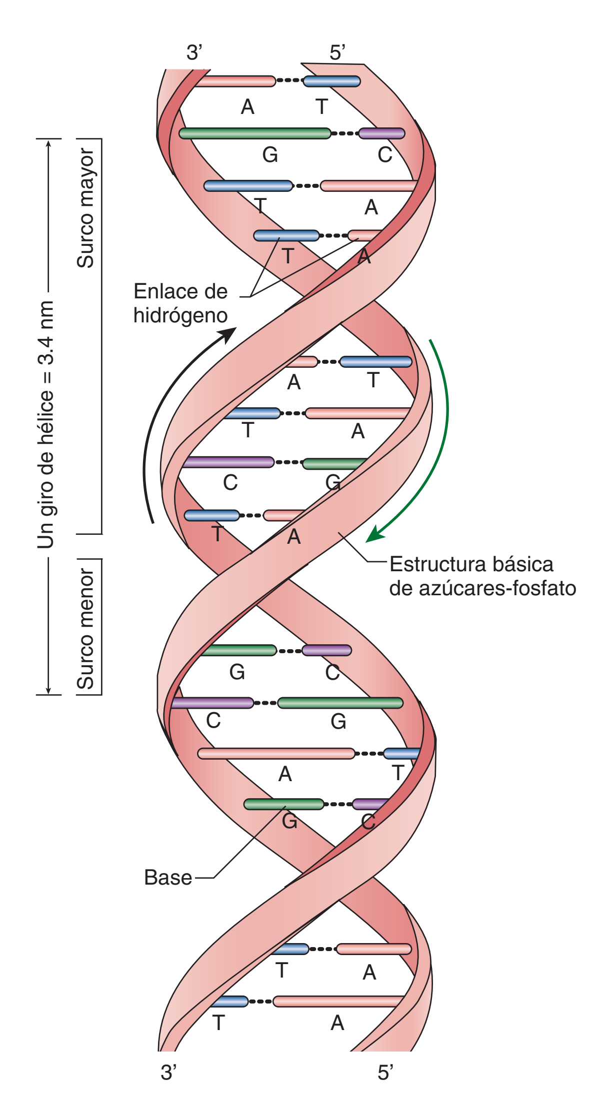


FIGURA 7-2 Esquema de Watson y Crick de la estructura de DNA, mostrando el esqueleto helicoidal formado por azúcares-fosfato, bicatenarios, que permanecen unidos por enlaces de hidrógeno entre las bases. (Redibujada con autorización de Snyder L, Champness W: *Molecular Genetics of Bacteria*, 2nd ed. ASM Press, 2002.)

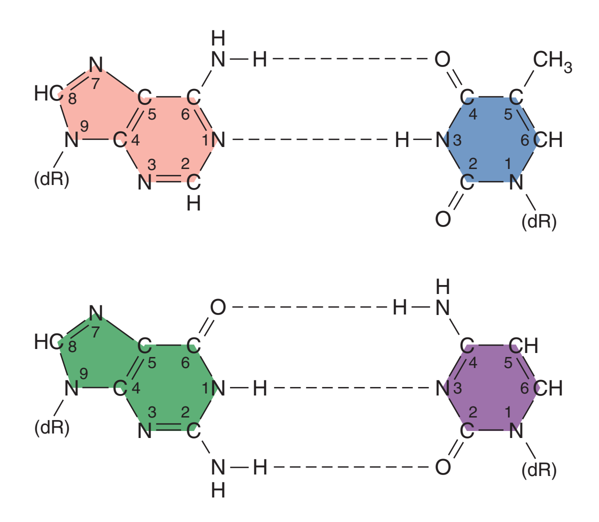
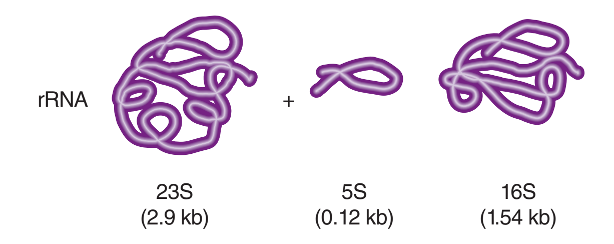


FIGURA 7-3 Pares de bases normales en el DNA. Arriba: par de adenina-timina (A-T); abajo: par de guanina-citocina (G-C). Los enlaces de hidrógeno se indican por medio de líneas punteadas. Nótese que los pares G-C comparten tres grupos de enlaces de hidrógeno, en tanto que el par A-T sólo contiene dos. En consecuencia, las interacciones G-C son más fuertes que las interacciones A-T. (dR, desoxirribosa de la estructura básica de azúcar-fosfato del DNA.)



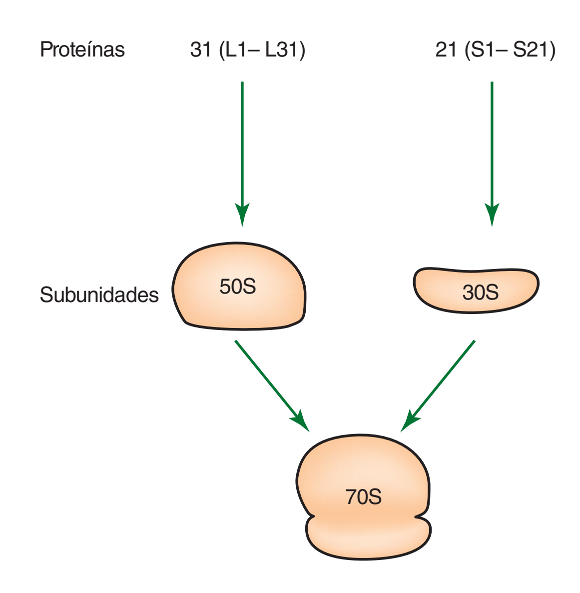


FIGURA 7-4 Composición de un ribosoma que contiene una copia de las fracciones 16S, 23S y 5S de RNA, así como varias proteínas. Las proteínas más grandes de la subunidad 50S se denominan L1 a L31. Las proteínas que son más pequeñas que la subunidad 30S se designan como S1 a S21. (Redibujada con autorización de Snyder L, Champness W: *Molecular Genetics of Bacteria*, 2nd ed. ASM Press, 2002).

la biología. En algunas se ha demostrado que funcionan como reguladores, ya sea al unirse cerca del extremo 5′ del mRNA, con lo que se evita que los ribosomas traduzcan el mensaje o que formen pares de bases directamente con una tira de DNA cerca del promotor, evitando la transcripción.

Genoma de las células eucariotas

El **genoma** es la totalidad de información genética en un organismo. Casi todo el genoma de las células eucariotas es transportado en dos o más cromosomas lineales separados del citoplasma por medio de una membrana que limita el núcleo. Las células eucariotas **diploides** contienen dos **homólogos** (copias divergentes desde el punto de vista evolutivo) de cada cromosoma. Las **mutaciones**, o cambios genéticos, con frecuencia no pueden detectarse en las células diploides porque la contribución de una copia génica compensa los cambios en la función de su homólogo. Un gen que no logra su expresión fenotípica en presencia de

su homólogo es un gen **recesivo**, en tanto que un gen que suprime los efectos de su homólogo es de tipo **dominante**. Los efectos de las mutaciones pueden diferenciarse con facilidad en las células **haploides**, que transportan una sola copia de la mayor parte de los genes. Las células de levadura (que son eucariotas) con frecuencia se investigan porque se mantienen y se analizan en un estado haploide.

La células eucariotas contienen mitocondrias y en algunos casos cloroplastos. En cada uno de estos organelos existe una molécula circular de DNA que contiene unos cuantos genes cuya función se relaciona con el organelo en particular. La mayor parte de los genes relacionados con la función orgánica son transportados por los cromosomas eucariotas. Muchas levaduras contienen elementos genéticos adicionales, un DNA independiente en replicación circular de 2 μm que contiene casi 6.3 kbp. Tales círculos pequeños de DNA se denominan **plásmidos** y con frecuencia se encuentran en la información genética de células procariotas. El tamaño pequeño de los plásmidos los hace susceptibles a la manipulación genética y, después su alteración, puede permitir su introducción a las células. Por tanto, los plásmidos se utilizan a menudo en la ingeniería genética.

El **DNA repetitivo** cada vez se identifica más a menudo en las células procariotas, y se encuentra en grandes cantidades en las células eucariotas. En los genomas eucariotas, el DNA repetitivo se asocia con poca frecuencia con las regiones de codificación y se ubica principalmente en regiones extragénicas. Estas repeticiones de secuencia corta (SSR, *short-sequence repeats*) o secuencias cortas de repetición en grupo (STR, *tandemly repeated sequences*) ocurren en varias o miles de copias dispersadas en todo el genoma. La presencia de SSR y STR está bien documentada en células procariotas y muestra amplio polimorfismo en cuanto a longitud. Se cree que esta variabilidad es causada por el deslizamiento con formación inapropiada de pares de bases y es un prerrequisito importante para la variación de fase y adaptación bacterianas. Muchos genes eucariotas son interrumpidos por **intrones**, secuencias interpuestas de DNA que se pierden en el mRNA procesado cuando se traducen. Se han observado intrones en genes de arqueobacterias, pero con pocas excepciones no se encuentran en eubacterias (cuadro 3-3).

Genoma de células procariotas

La mayor parte de genes procariotas son transportados en los cromosomas bacterianos. Con pocas excepciones, los genes bacterianos son haploides. Los datos de la secuencia genómica de más de 340 genomas microbianos han indicado que la mayor parte de los genomas procariotas (>90%) consiste en una sola molécula de DNA circular que contiene desde 580 kbp a más de 5 220 kbp de DNA (cuadro 7-1). Unas cuantas bacterias (p. ej., *Brucella melitensis*, *Burkholderia pseudomallei* y *Vibrio cholerae*) tienen genomas que consisten en dos moléculas de DNA circular. Muchas bacterias contienen genes adicionales en los plásmidos que varían en tamaño desde varios hasta 100 kbp.

Los círculos de DNA están cerrados por enlaces covalentes (cromosomas y plásmidos bacterianos), que contienen la información genética necesaria para su propia replicación, lo que se denomina **replicones**. Las células procariotas no contienen un núcleo, y por tanto no existe una membrana que separa de los genes bacterianos del citoplasma, como ocurre en las células eucariotas.

Algunas especies bacterianas son eficientes al causar enfermedades en organismos superiores porque poseen genes específicos que actúan como determinantes patógenos. Estos genes a menudo se agrupan en el DNA, lo que se conoce como **isla de patogenicidad**. Estos segmentos de genes pueden ser bastante grandes (hasta 200 kbp) y codifican un grupo de genes de virulencia. Las islas de patogenicidad: 1) tienen un contenido diferente de G + C del resto del genoma; 2) tienen relación estrecha entre los cromosomas con los genes de tRNA; 3) están rodeados por repeticiones directas, y 4) contienen diversos genes importantes para la patogenia (lo que incluye adhesinas, invasinas y exotoxinas), así como aquellas que pueden participar en la movilización.

Los genes esenciales para el desarrollo bacteriano (a menudo conocidos como “genes domésticos”) son transportados en los cromosomas y los plásmidos transportan genes relacionados con funciones especializadas (cuadro 7-2). Muchos plásmidos codifican genes que median la transferencia de un organismo a otro así como de otros genes relacionados con adquisición por la disposición genética de DNA. Por tanto, los genes con orígenes evolutivos independientes pueden asimilarse por los plásmidos y más tarde se diseminan ampliamente entre la población bacteriana. Una consecuencia de tales eventos genéticos se ha observado en la modificación entre las poblaciones bacterianas de resistencia originada por plásmidos a los antibióticos después de su uso liberal en hospitales.

Los **transposones** son elementos genéticos que contienen varios genes, lo que incluye aquellos necesarios para la migración de un locus genético a otro. Al hacerlo de esta forma, crean **mutaciones de inserción**. La participación de transposones relativamente cortos (longitud de 0.75 a 2.0 kbp), conocidos como **elementos de inserción,** producen la mayor parte de las mutaciones de inserción. Estos elementos de inserción (también conocidos como elementos de secuencias de inserción [IS, *insertion sequence*]) transportan sólo los genes para las enzimas necesarias a fin de favorecer su propia transposición a otro locus genético, pero no pueden replicarse por sí mismos. Casi todas las bacterias transportan elementos IS y cada especie porta sus propias características. Los elementos IS relacionados pueden encontrarse en ocasiones en diferentes bacterias, lo que implica que en algún punto de la evolución ocurrieron recombinaciones con otras bacterias. Los plásmidos también portan elementos IS, que son importantes para la formación de cepas recombinantes de alta frecuencia (Hfr, *high-frequency recombinant*) (véase adelante). Los transposones complejos portan genes para funciones especializadas como resistencia a antibióticos y están rodeados por secuencias de inserción. A diferencia de los plásmidos, los transposones no contienen la información genética necesaria para su propia replicación. La selección de transposones depende de su propia replicación como parte de un replicón. La detección o la explotación genética de transposones se logra mediante la selección de la información genética especializada (por lo común, resistencia a un antibiótico) que portan.

Genoma viral

Los virus son capaces de sobrevivir, pero no de proliferar en ausencia de una célula hospedadora. La replicación del geno-

CUADRO 7-1 Comparación del tamaño de los genomas en procariotas, bacteriófagos y virus selectos

	Microorganismo	Tamaño (kbp)
Procariotas		
Arqueobacterias	*Methanococcus jannaschii*	1 660
	Archaeoglobus fulgidus	2 180
Eubacterias	*Mycoplasma genitalium*	580
	Mycoplasma pneumoniae	820
	Borrelia burgdorferi	910
	Chlamydia trachomatis	1 040
	Rickettsia prowazekii	1 112
	Treponema pallidum	1 140
	Chlamydia pneumoniae	1 230
	Helicobacter pylori	1 670
	Haemophilus influenzae	1 830
	Francisella tularensis	1 893
	Coxiella burnetii	1 995
	Neisseria meningitides serogrupo A	2 180
	Neisseria meningitides serogrupo B	2 270
	Brucella melitensis[a]	2 117 + 1 178
	Mycobacterium tuberculosis	4 410
	Escherichia coli	4 640
	Bacillus anthracis	5 227
	Burkholderia pseudomallei[a]	4 126 + 3 182
Bacteriófago	Lambda	48
Virus	Ébola	19
	Viruela	186
	Vaccinia	192
	Citomegalovirus	229

[a] Organismos con dos cromosomas circulares diferentes.

CUADRO 7-2 Ejemplos de actividades metabólicas determinadas por plásmidos

Microorganismo	Actividad
Pseudomonas sp.	Degradación de alcanfor, tolueno, octano, ácido salicílico
Bacillus stearothermophilus	Amilasa α
Alcaligenes eutrophus	Utilización de H_2 como fuente de energía oxidable
Escherichia coli	Captación y metabolismo de sacarosa, captación de citrato
Klebsiella sp.	Fijación de nitrógeno
Streptococcus (grupo N)	Utilización de lactosa, sistema de galactosa fosfotransferasa, metabolismo de citrato
Rhodospirillum rubrum	Síntesis de pigmento fotosintético
Flavobacterium sp.	Degradación de nailon

ma viral depende de la energía metabólica y maquinaria de síntesis de macromoléculas del hospedador. Con frecuencia, esta forma de parasitismo genético da origen a la debilitación o muerte de la célula hospedadora. Por tanto, para la propagación exitosa de los virus se requiere: 1) una forma estable que permita que el virus sobreviva en ausencia de su hospedador; 2) un mecanismo para la invasión de la célula hospedadora; 3) información genética necesaria para la replicación de los componentes virales en el interior de la célula, y 4) información adicional que pueda ser necesaria para el empaquetamiento de los componentes virales y la liberación del virus resultante desde la célula hospedadora.

Con frecuencia se hacen distinciones entre los virus relacionados con células eucariotas y aquellos relacionados con las procariotas y a estas últimas se les denomina **bacteriófago** o **fago**. Con más de 5 000 aislamientos de morfología conocida, los bacteriófagos constituyen el mayor grupo de todos los virus. Gran parte de la comprensión actual de los virus (y muchos conceptos fundamentales de biología molecular) han surgido de investigaciones de bacteriófagos; este grupo de virus se revisa en este capítulo.

Los bacteriófagos se presentan en más de 140 géneros bacterianos y en diversos hábitat. La molécula de ácido nucleico de los bacteriófagos está rodeada por una cubierta proteínica. Algunos de éstos también contienen lípidos. Existe una variabilidad notable en el ácido nucleico de los bacteriófagos. Muchos fagos contienen DNA bicatenario; otros contienen RNA bicatenario, RNA monocatenario o DNA monocatenario. En ocasiones se encuentran bases poco comunes como hidroximetilcitosina en el ácido nucleico de bacteriófagos. Los bacteriófagos muestran una amplia gama de morfologías. Muchos contienen estructuras especializadas con forma similar a jeringas (colas) que se unen a receptores sobre la superficie celular e inyectan el ácido nucleico del bacteriófago en la célula hospedadora (fig. 7-5); otros bacteriófagos tienen aspecto cúbico, filamentoso o pleomórfico.

Los fagos pueden diferenciarse con base en su modo de propagación. Los **fagos líticos** producen muchas copias de sí mismos conforme destruyen la célula hospedadora. Los fagos líticos estudiados más a fondo, los fagos T "pares" (p. ej., T2, T4), han demostrado la necesidad de expresión oportuna de los genes virales a fin de coordinar los eventos relacionados con la formación del bacteriófago. Los **fagos atemperados** son capaces de entrar a un estado de **profago** elíptico en el cual la replicación de su ácido nucleico está vinculado con la replicación del DNA de la célula hospedadora. Las bacterias que portan profagos se denominan **lisógenas** porque una señal fisiológica puede desencadenar un ciclo lítico que da origen a la destrucción de la célula hospedadora y la liberación de muchas copias del bacteriófago. El fago atemperado mejor identificado es el fago λ (lambda) de *E. coli*. Se han identificado los genes que determinan la respuesta lítica o lisógena a la infección λ y se han explorado sus interacciones complejas en detalle.

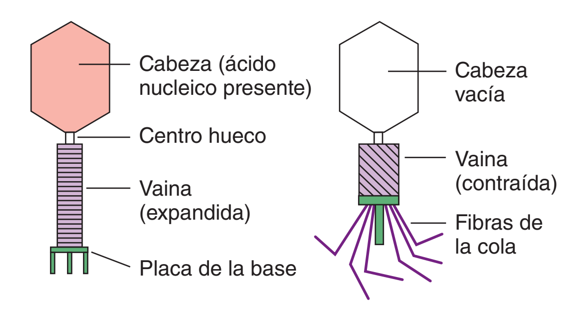


FIGURA 7-5 Ilustraciones del fago T2 con o sin ácido nucleico. Obsérvese que cuando el fago se encuentra cargado con ácido nucleico adquiere una forma diferente que cuando carece del mismo. Este diagrama se dibujó con base en observaciones realizadas en una micrografía electrónica.

Los **fagos filamentosos**, que se ejemplifican bien con el fago M13 de *E. coli* son excepcionales en varios aspectos. Sus filamentos contienen DNA monocatenario que forma complejos con proteínas y presentan extrusión desde la célula hospedadora, la cual se debilita pero no muere a causa de la infección por fagos. La ingeniería de DNA en el interior del fago M13 ha proporcionado cadenas únicas que son fuentes de gran utilidad para el análisis y manipulación del DNA.

REPLICACIÓN

El DNA bicatenario se sintetiza por **replicación semiconservadora**. Conforme la doble cadena original se desenrolla, cada cadena sirve como plantilla (es decir, como la fuente de secuencia de información) para la replicación de DNA. Nuevas cadenas se sintetizan con la colocación de bases en orden complementario a las cadenas preexistentes. Cuando se ha completado la síntesis, cada molécula hija contiene una cadena original y una cadena de síntesis reciente.

DNA eucariota

La replicación de DNA eucariota inicia en varios puntos de crecimiento a lo largo del cromosoma lineal. La replicación precisa de los extremos de los cromosomas lineales requiere actividades enzimáticas diferentes de las que en condiciones normales se asocian con la replicación de DNA. Estas actividades pueden incluir **telómeros**, secuencias especializadas de DNA (transportadas en los extremos de los cromosomas eucariotas) que parecen estar relacionadas con replicación precisa de los extremos cromosómicos. Las células eucariotas han evolucionado a una maquinaria especializada, denominada **huso**, que desplaza los cromosomas hijos hacia un núcleo separado, recién formado mediante el proceso de **mitosis**. La división más amplia del núcleo por medio de **miosis** divide a la mitad el número de cromosomas de las células diploides para dar origen a células haploides. La separación precisa de los cromosomas durante las divisiones de reducción de miosis son un factor importante para mantener la estructura cromosómica en las especies. Con frecuencia las células haploides son **gametos**. La formación de gametos seguida por su fusión para formar **cigotos** diploides es la fuente primaria de la variabilidad genética a través de la recombinación en las células eucariotas.

DNA bacteriano

Las bacterias carecen de estructuras complejas relacionadas con la separación de los cromosomas que ocurre en las células eucariotas en un núcleo hijo diferente. La replicación de DNA bacteriano inicia en un punto y se desplaza en ambas direcciones (**replicación bidireccional**). En el proceso, las dos cadenas viejas de DNA se separan y se utilizan como plantilla para la síntesis de nuevas cadenas (**replicación semiconservadora**). La estructura donde dos cadenas se separan y ocurre la nueva síntesis se conoce como **horquilla de replicación** . La replicación del cromosoma bacteriano es un proceso estrechamente controlado; el número de cada cromosoma (cuando hay más de uno) por célula en desarrollo disminuye entre uno y cuatro. Algunos plásmidos bacterianos pueden tener hasta 30 copias de una célula bacteriana y las mutaciones causan un menor control de la replicación de plásmidos, lo que puede dar origen a un número incluso mayor de copias.

La replicación de DNA bacteriano circular bicatenario inicia en el locus *ori* e implica interacciones con varias proteínas. En el caso de *E. coli*, la replicación cromosómica termina en una región denominada *ter*. Los sitios de **origen** (*ori*) y de **terminación** (*ter*) para la replicación se ubican en puntos opuestos en el DNA circular del cromosoma. Los dos cromosomas hijos se separan o se resuelven antes de la división celular, de forma que cada progenie cuenta con un DNA hijo. Esto se logra con la ayuda de la recombinación y con **topoisomerasas**, enzimas que alteran el superenrollado del DNA bicatenario. En el superenrollado las moléculas de DNA giran en una forma similar a un cable telefónico, lo que acorta la longitud de la molécula. Las topoisomerasas actúan al cortar en forma transitoria una o ambas cadenas de DNA para interrumpir la espiral y extender la molécula de DNA. Las topoisomerasas bacterianas son esenciales y singulares, y por tanto son el sitio de acción de algunos **antibióticos** (p. ej., fluoroquinolonas). Un proceso similar conduce a la replicación de DNA de plásmidos, con la excepción de que en algunos casos la replicación es unidireccional.

Transposones

Los transposones no portan la información genética necesaria para acoplar su propia replicación a la división celular y por tanto su propagación depende de su integración física con el replicón bacteriano. Esta asociación se favorece por medio de enzimas que confieren la capacidad de los transposones para formar copias de sí mismos; estas enzimas pueden permitir que los transposones se integren con el mismo replicón o con un replicón independiente. La especificidad de la secuencia en el sitio de inserción por lo general es baja, de forma que los transposones a menudo parecen insertarse en un patrón aleatorio, pero tienden a favorecer regiones codificadas por tRNA. Muchos plásmidos se transfieren entre células bacterianas y la inserción de un transposón en dicho plásmido es un vehículo que conduce a la diseminación de transposones en toda la población bacteriana.

Bacteriófagos

Los bacteriófagos muestran diversidad considerable en cuanto a la naturaleza de su ácido nucleico; dicha diversidad se refleja en

los diferentes modos de replicación. Los fagos líticos y atemperados muestran estrategias de propagación fundamentalmente diferentes. Los fagos líticos producen muchas copias de sí mismos en un solo brote de crecimiento. Los fagos atemperados se establecen en la forma de profagos ya sea al volverse parte de un replicón establecido (cromosoma o plásmido) o al formar un replicón independiente.

El dsDNA de muchos fagos líticos es lineal y la primera etapa en su replicación es la formación de DNA circular. Este proceso depende de **extremos de cohesión** , complementarios monocatenarios de DNA que se hibridizan. La **ligadura**, que consiste en la formación de un enlace fosfodiéster entre los extremos 5′ y 3′ de DNA, da origen a DNA circular unido por enlaces componentes que puede sufrir replicación de una forma similar a la utilizada por otros replicones. El desdoblamiento de esta estructura circular produce DNA lineal que se empaca en cubiertas proteínicas para formar la progenie de los fagos.

El ssDNA de los fagos filamentosos se convierte a una forma de replicación circular bicatenaria. Una cadena de las formas de replicación se utiliza como plantilla en un proceso continuo que produce DNA monocatenario. La plantilla es un círculo cerrado y el ssDNA que se produce sufre desdoblamiento y empaquetamiento con proteínas para su extrusión de la célula.

Los fagos ssRNA se encuentran entre las partículas extracelulares más pequeñas que contienen información que permite su propia replicación. Por ejemplo, el fago MS2 de RNA contiene (en menos de 4 000 nucleótidos) los tres genes que pueden actuar como mRNA después de una infección. Un gen codifica la cubierta de proteínas en tanto que otro codifica la polimerasa de RNA que forma un dsRNA para la replicación. El ssRNA producido por la forma replicativa es la parte principal de esta nueva partícula infecciosa. El mecanismo de propagación del bacteriófago de RNA a través de intermediarios de RNA contrasta fuertemente con la propagación de **retrovirus**, RNAvirus animales que utilizan RNA como plantilla para la síntesis de DNA.

Algunos bacteriófagos atemperados, que se ejemplifican por el fago P1 de *E. coli* pueden establecerse en un estado de profago como un plásmido. El dsDNA de otro bacteriófago atemperado se establece como profago mediante la inserción en el cromosoma del hospedador. El sitio de inserción puede ser bastante específico, como se ejemplifica por la integración del fago λ de *E. coli* en el locus *int* del cromosoma bacteriano. La especificidad de la integración depende de la identidad de la secuencia de DNA compartido por el locus cromosómico *int* y una región correspondiente del genoma del fago. Otro fago atemperado, como el fago Mu de *E. coli*, se integra en cualquier sitio de una amplia gama de sitios cromosómicos y en este aspecto se comporta de manera similar a los transposones.

Los profagos contienen genes necesarios para la replicación lítica (también conocida como replicación vegetativa) y la expresión de estos genes se conserva reprimida durante el mantenimiento del estado de profago. Una manifestación de represión es que un profago establecido con frecuencia confiere inmunidad celular contra infecciones líticas por medio de un fago similar. Una cascada de interacciones moleculares desencadena la **supresión de la represión** de forma que los profagos sufren replicación vegetativa, lo que conduce a la formación de un brote de partículas infecciosas. Estímulos artificiales como la luz ultravioleta pueden causar supresión de la represión del profago. El cambio entre la lisogenia (propagación del genoma del fago en el hospedador) y el crecimiento de un fago vegetativo ocurre a expensas de la célula y puede depender en parte del estado fisiológico de la misma. Una bacteria que no presenta replicación no dará soporte vegetativo al crecimiento del fago, en tanto que una célula en crecimiento intensivo contiene energía y cantidades suficientes de bloques de construcción para soportar la replicación rápida del bacteriófago.

TRANSFERENCIA DE DNA

Puede suponerse que la naturaleza haploide del genoma bacteriano limita la plasticidad genómica de una bacteria. Sin embargo, la distribución ubicua de diversas bacterias en el medio ambiente proporciona un amplio acervo genético que contribuye a su notable diversidad genética a través de mecanismos de intercambio genético. El intercambio genético bacteriano está tipificado por la transferencia de fragmentos relativamente pequeños de genoma donador a una célula receptora, seguida de su recombinación genética. La recombinación genética bacteriana es muy diferente a la fusión de los gametos observadas en las células eucariotas; demanda que este DNA donador se replique en el organismo recombinante. La replicación puede lograrse a través de la integración del DNA donador en un cromosoma del receptor o mediante el establecimiento de DNA donador como un replicón independiente.

Restricción y otras limitantes de la transferencia génica

Las **enzimas de restricción** (endonucleasas de restricción) proporcionan a las bacterias mecanismos para diferenciar entre su propio DNA y el DNA de otros orígenes biológicos. Estas enzimas hidrolizan (desdoblan) el DNA en sitios de restricción que dependen de secuencias específicas de DNA que van desde cuatro a 13 bases. Los fragmentos de DNA pueden prepararse de manera selectiva a causa de dicha selectividad; esta es la base de la ingeniería genética. Cada cepa bacteriana posee un sistema de restricción que es capaz de ocultar estos sitios de reconocimiento en su propio DNA al modificarlos mediante metilación o la adición de residuos de citosina en el sitio. Dichos sistemas de modificación de la restricción caen en dos grupos amplios: sistemas tipo I, en el cual las actividades de restricción y modificación se combinan en una proteína con varias subunidades y el sistema tipo II, que consiste en endonucleasas y metilasas separadas. Una consecuencia biológica directa de la restricción puede ser el desdoblamiento del DNA donador antes de que tengan la oportunidad de establecerse como parte del replicón recombinante. Por tanto, muchos receptores utilizados en la ingeniería genética son disfuncionales en los genes *res* relacionados con restricción-modificación.

Algunos plásmidos muestran un número limitado de hospedadores y son capaces de replicarse sólo en un grupo de bacterias con relación estrecha. Otros plásmidos, ejemplificados por algunos plásmidos de resistencia a fármacos, se replican en una amplia gama de recombinantes bacterianos. Sin embargo, no todos los tipos de plásmidos pueden coexistir en forma estable en una célula. Algunos tipos presentan interferencia con la replicación o partición de otro tipo, de forma que si tales plásmidos se introducen en la misma célula, se perderá uno u

otro a una tasa mayor a la normal conforme se divida la célula. El fenómeno se denomina **incompatibilidad de plásmidos**; los plásmidos que no pueden coexistir de manera estable pertenecen al mismo **grupo de incompatibilidad (Inc)**; dos plásmidos que pueden coexistir en forma estable pertenecen a diferentes grupos Inc.

Mecanismos de recombinación

El DNA donador que no porta información necesaria para su propia replicación debe combinarse con el DNA del receptor a fin de establecerse en la cepa receptora. La recombinación puede ser **homóloga**, una consecuencia de la similitud estrecha en las secuencias del DNA donador y receptor, o **no homóloga**, lo que da origen a una recombinación catalizada por enzimas entre secuencias diferentes de DNA. La recombinación homóloga casi siempre implica el intercambio entre genes que comparten ancestros comunes. El proceso requiere un grupo de genes designados como *rec* y las disfunciones en estos genes dan origen a bacterias que pueden mantener genes estrechamente homólogos en ausencia de recombinación. La recombinación no homóloga depende de enzimas codificadas por el DNA integrado y se ejemplifica con mayor claridad por la inserción de DNA en un receptor para formar una copia de un transposón donador.

El mecanismo de recombinación mediada por los productos génicos del gen *rec* es recíproco: la introducción de una secuencia donadora en un receptor corresponde con la transferencia de una secuencia receptora homóloga en el DNA donador. La comunidad científica pone cada vez más atención a la participación de la **conversión génica** (transferencia no recíproca de secuencias de DNA del donador al receptor) en la adquisición de diversidad genética.

Mecanismos de transferencia génica

La composición del DNA de los microorganismos puede ser notablemente fluida. El DNA puede transferirse de un organismo a otro, y dicho DNA puede incorporarse de manera estable en el receptor, modificando de manera permanente su composición genética. Este proceso se denomina transferencia génica **lateral** u **horizontal** para diferenciarla de la herencia proveniente de genes paternos, un proceso conocido como herencia **vertical**. Los tres mecanismos amplios que median el desplazamiento eficiente del DNA entre las células son: **conjugación**, **transducción** y **transformación**.

La **conjugación** requiere que la célula donadora y receptora se encuentre en contacto para la transferencia de una sola cadena de DNA (fig. 7-6). El receptor completa la estructura del DNA bicatenario mediante la síntesis de la cadena que complementa a la cadena adquirida del donador. En la **transducción** el DNA del donador se transporta en un fago cubierto y se transfiere al receptor por un mecanismo utilizado para la infección por bacteriófagos. La **transformación** consiste en la captación directa de DNA "desnudo" del donador por la célula receptora, lo cual puede ser natural o forzado. Relativamente pocas especies bacterianas presentan competencia natural para la transformación; estas especies asimilan el DNA del donador en forma lineal. La transformación forzada es inducida en el laboratorio, donde después del tratamiento con altas concentraciones de sales y un golpe térmico, muchas bacterias se tornan competentes para la captación de plásmidos extracelulares. La capacidad para forzar a las bacterias para incorporar plásmidos extracelulares mediante transformación es un proceso fundamental para la ingeniería genética.

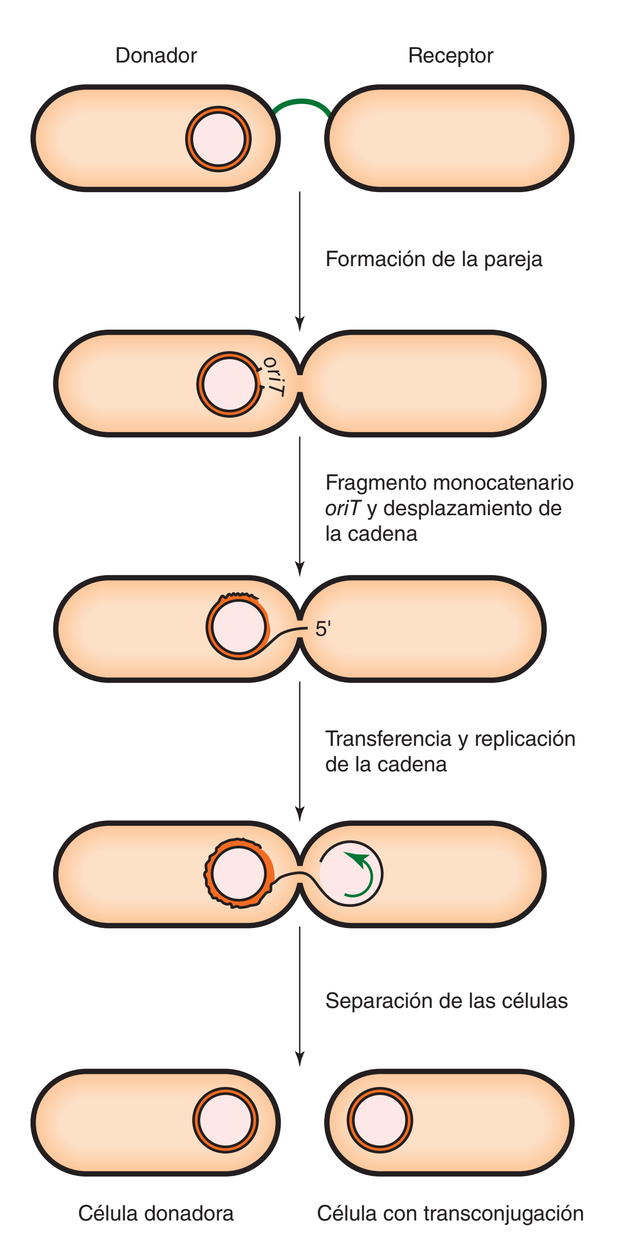


FIGURA 7-6 Mecanismos de transferencia de DNA durante la conjugación. La célula donadora produce una pilosidad, que es codificada por plásmidos y se pone en contacto con una célula receptora potencial que no contiene el plásmido. La retracción de la privacidad acerca a las células y se forma un poro en las membranas celulares adyacentes. Formación de señales de apareamiento que indican que el plásmido inicia la transferencia de un fragmento monocatenario en *oriT*. El fragmento está constituido por un plásmido codificado con funciones *tra*. El extremo 5′ de una cadena del plásmido se transfiere al receptor a través del poro. Durante la transferencia, el plásmido se replica del donador e inicia la síntesis de DNA a partir del extremo 3′ del fragmento *oriT*. La replicación de una cadena en el receptor continúa por diferentes mecanismos conservadores de RNA. Ambas células contienen ahora plásmidos bicatenarios y las células se separan. (Redibujada con autorización de Snyder L, Champness W: *Molecular Genetics of Bacteria*. ASM Press, 1997.)

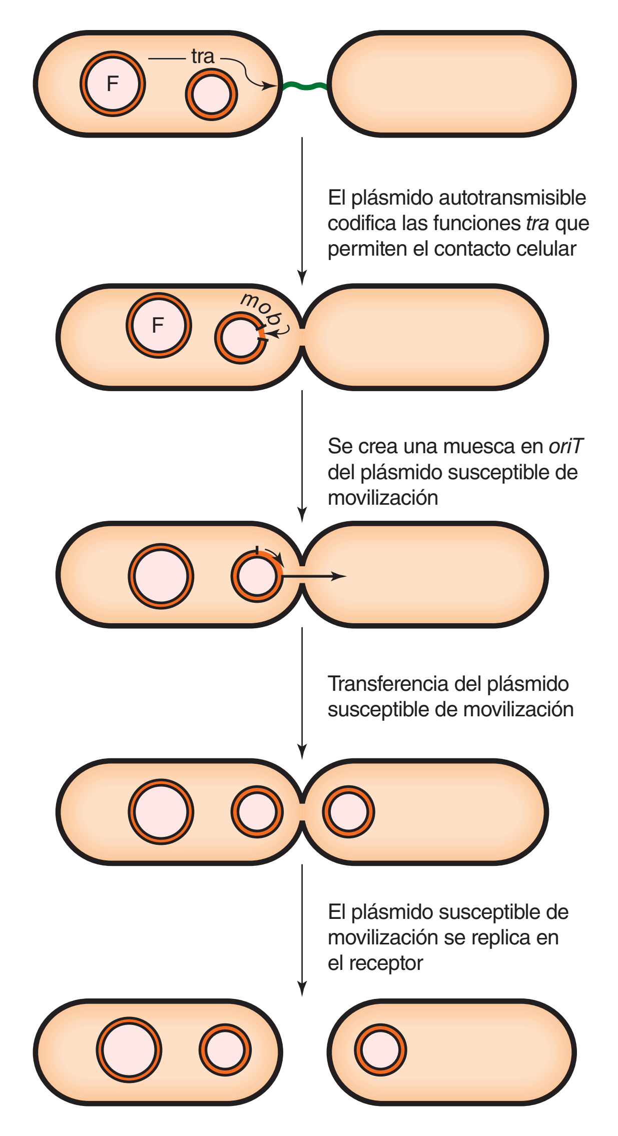


FIGURA 7-7 Mecanismos de movilización de plásmidos. La célula donadora porta dos plásmidos, un plásmido autotransmisible F que codifica las funciones *tra* que promueven el contacto celular y la transferencia de plásmidos y un plásmido susceptible de movilización. Las funciones *mob* codificadas por un plásmido susceptible de movilización crean una muesca monocatenaria en *oriT* en la región *mob*. Entonces ocurre la transferencia y replicación del plásmido susceptible de movilización. También puede transferirse el plásmido autotransmisible. (Redibujada con autorización de Snyder L, Champness. W: *Molecular Genetics of Bacteria*. ASM Press, 2nd ed. 2002.)

A. Conjugación

Los plásmidos son los elementos genéticos que más a menudo se transfieren por conjugación. Las funciones genéticas necesarias para la transferencia están codificadas por los genes *tra*, que son transportados por **plásmidos autotransmisibles**. Estos últimos pueden movilizar otros plásmidos o porciones del cromosoma para su transferencia. En algunos casos se logra la movilización porque los genes *tra* proporcionan las funciones necesarias para la transferencia de un plásmido por lo demás no susceptible de transmisión (figs. 7-7 y 7-8). En otros casos, los plásmidos autotransmisibles se integran con el DNA de otro replicón y, como una extensión de sí mismo, portan cadenas de DNA a la célula receptora.

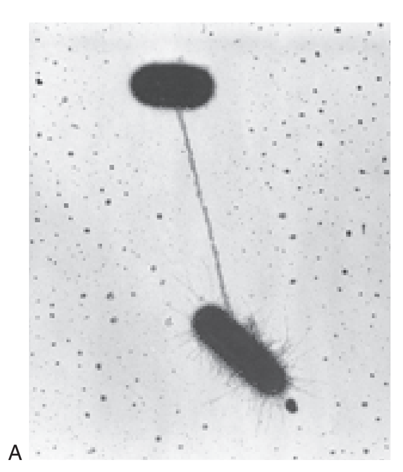
El análisis genético de *E. coli* avanzó en gran medida al dilucidar los factores de **fertilidad** que portaban los plásmidos designados como F^+. Este plásmido confiere ciertas características del donador a las células; tales características incluyen una pilosidad sexual, extrusión de proteínas multiméricas extracelulares que se unen a las células del donador al organismo receptor que carece de factor de fertilidad. Un puente entre las células permite que una cadena de plásmido F^+, sintetizada por el donador, pase hacia el receptor, donde se forma una cadena de DNA complementario. El factor de fertilidad F^+ puede integrarse en numerosos loci en los cromosomas de las células donadoras. El factor de fertilidad integrado crea donadores con recombinaciones de alta frecuencia (HFR, *high frequency recombination*) en la cual se transfiere DNA cromosómico (del sitio de inserción) en una dirección determinada por la orientación de la inserción (fig. 7-9).

La tasa de transferencia cromosómica de las células Hfr es constante y la compilación de resultados de muchos experimentos de conjugación ha permitido la preparación de un **mapa genético** de *E. coli*, en el cual se mide la distancia entre los loci en el número de minutos necesarios para la transferencia en la conjugación. Se ha construido un mapa similar para coliformes relacionadas como *Salmonella typhimurium* y de la comparación de los dos mapas se han mostrado patrones relacionados en la organización génica.

Los procedimientos análogos con otros plásmidos han permitido a los investigadores crear mapas de cromosomas circulares de miembros de géneros bacterianos distantes; p. ej., los plásmidos de resistencia a fármacos, conocidos como **factores R**, que pueden favorecer la transferencia cromosómica de diversas bacterias, lo que incluye *Pseudomonas* sp., la comparación de mapas cromosómicos de *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas putida* muestra que unas cuantas disposiciones genéticas, aunque significativas, acompañan a la divergencia de estas dos especies con relación estrecha. Los mapas de *Pseudomonas* tienen poco en común con aquellos de bacterias coliformes distantes desde el punto de vista biológico.

La integración del DNA cromosómico en un plásmido de conjugación puede producir un replicón recombinante —un cebador **F** (de fertilidad) o **R** (de resistencia), lo que depende del plásmido— en el cual el DNA cromosómico integrado puede replicarse en el plásmido de manera independiente del cromosoma. Esto ocurre cuando el plásmido integrado (p. ej., F) es rodeado por dos copias de un elemento IS. Las bacterias que portan copias de genes, un grupo completo de cromosomas y un grupo parcial de cebadores, son **parcialmente diploides** o **merodiploides** y son útiles para estudios de complementación. Un gen silvestre con frecuencia se complementa con un homólogo mutante y la selección de un fenotipo silvestre puede permitir el mantenimiento de merodiploides en el laboratorio. Es posible que tales cepas permitan el análisis de interacciones entre los diferentes **alelos**, variantes genéticas del mismo gen. Los merodiploides con frecuencia son inestables desde el punto de vista genético porque las recombinaciones entre los plásmidos y el cromosoma homólogo pueden ocasionar pérdida o cambio del mutante o alelos de tipo silvestre. Este problema a menudo se supera al conservar los merodiploides en un entorno genético en el cual se haya inactivado por mutación del gen *recA*, que es necesario para la recombinación entre segmentos homólogos de DNA.

Los genes homólogos de diferentes organismos pueden ser divergentes en un área tal que evite la recombinación homóloga





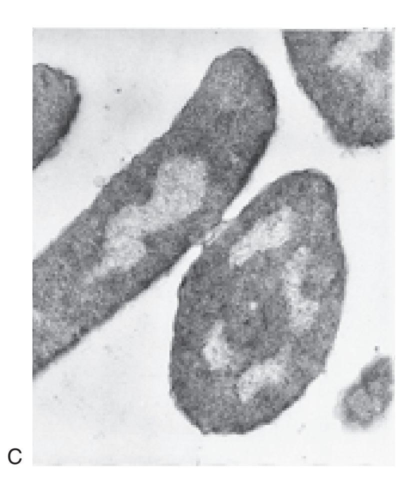


FIGURA 7-8 **A:** Una célula macho y una hembra se unen por medio de una pilosidad F (pilosidad sexual). **B:** Parejas las células de *E. coli*. Hay elongación de las células Hfr. **C:** Micrografía electrónica de un corte delgado de una pareja de células. Las paredes celulares se encuentran en contacto íntimo con un área en la que se ha formado un "puente". (Fotografías B y C reproducidas con autorización de Gross JD and Caro LG: DNA transfer in bacterial conjugation. J Mol Biol 1966;16:269.)

entre ellos, pero que no se altere la capacidad de un gen para complementar la actividad perdida de otro. Por ejemplo, el origen genético de una enzima necesaria para la biosíntesis de un aminoácido probablemente no influya la actividad catalítica en el citoplasma de un hospedador distante desde el punto de vista biológico. Un merodiploide que porta un gen para tal enzima podría estar rodeado por genes derivados del organismo donador. Por tanto, la genética microbiana convencional, con base en la selección de plásmidos cebadores, puede utilizarse para aislar genes de un organismo de crecimiento lento para utilizarse en *E. coli* o *P. aeruginosa*. La importancia de esta tecnología yace en su capacidad para simplificar o evitar procedimientos relativamente costosos necesarios por los métodos de ingeniería genética.

B. Transducción

La transducción es una recombinación genética en las bacterias mediada por bacteriófagos. En términos simples, una partícula de transducción puede considerarse como el ácido nucleico bacteriano en un fago cubierto. Incluso una población de fagos líticos puede contener algunas partículas en las cuales la cubierta del fago está rodeada por DNA derivado de la bacteria más que del propio fago. Tal población se ha utilizado para transferir genes de una bacteria a otra. Los fagos atemperados son los vehículos preferidos para la transferencia génica porque la infección de las bacterias receptoras bajo condiciones que favorecen la lisogenia reduce la lisis celular y por tanto favorece la supervivencia de las cepas recombinantes. Además, la bacteria receptora porta un poro fago apropiado que puede formar un represor que a su vez da origen a inmunidad celular contra la infección lítica; tales células pueden aún captar DNA bacteriano a partir de partículas de transducción. Las mezclas de transducción portan DNA donador que puede prepararse bajo condiciones que favorecen el ciclo del fago lítico.

El tamaño del DNA en las partículas de transducción por lo común constituye un pequeño porcentaje del cromosoma bacteriano y por tanto la **cotransducción** (transferencia de más de un gen a la vez) se limita a los genes bacterianos vinculados. Este proceso es de particular utilidad para el mapeo de genes que se encuentran demasiado cercanos para ser colocados en un mapa ordenado utilizando el método de transferencia de conjugación. Los fagos mutantes pueden identificarse con base en la morfología de la **placa** que forman por lisis de un grupo de bacterias que crecen en agar solidificado.

Las **islas de patogenicidad** a menudo son transportadas por fagos. Por ejemplo, dos fagos transportan islas de patogenicidad que son las causantes de convertir una forma benigna de *Vibrio cholerae* en una forma patógena causante del cólera epidémico (cap. 17). Estos fagos codifican genes para la toxina del cólera y para la formación de pilosidades cuya función es la fijación de la bacteria.

La velocidad con la cual los fagos se recombinan y se replican los ha hecho objetos centrales para el estudio de este proceso, y muchas generalizaciones relacionadas con el mecanismo subyacente han surgido de la genética de los fagos. La capacidad de los fagos para producir réplicas rápidas de su propio DNA los hace de gran utilidad para la ingeniería genética. De particular utilidad son los fagos recombinantes modificados genéticamente de forma tal que contienen inserciones de DNA de otra fuente biológica. El DNA insertado puede replicarse con la rapidez que caracteriza a los fagos de DNA y se recuperan en una forma útil para su manipulación. El DNA monocatenario, producido por el fago M13 y por sus derivados, actúa como plantilla para el secuenciamiento y mutagénesis a sitios dirigidos.

C. Transformación

La captación directa de DNA donador por bacterias receptoras depende de su **competencia** para la transformación. La competencia natural es poco común entre bacterias y algunas de estas cepas son transformables sólo en presencia de **factores de competencia**, que se producen en un punto específico en el ciclo de crecimiento. Otras cepas sufren transformación natural con rapidez y esos organismos ofrecen una promesa para la ingeniería genética por la facilidad con la cual incorporan DNA modificado a sus cromosomas. Se encuentran bacterias transformables competentes naturalmente en varios géneros, lo que incluye *Bacillus subtilis, Haemophilus influenzae, Neisse-*

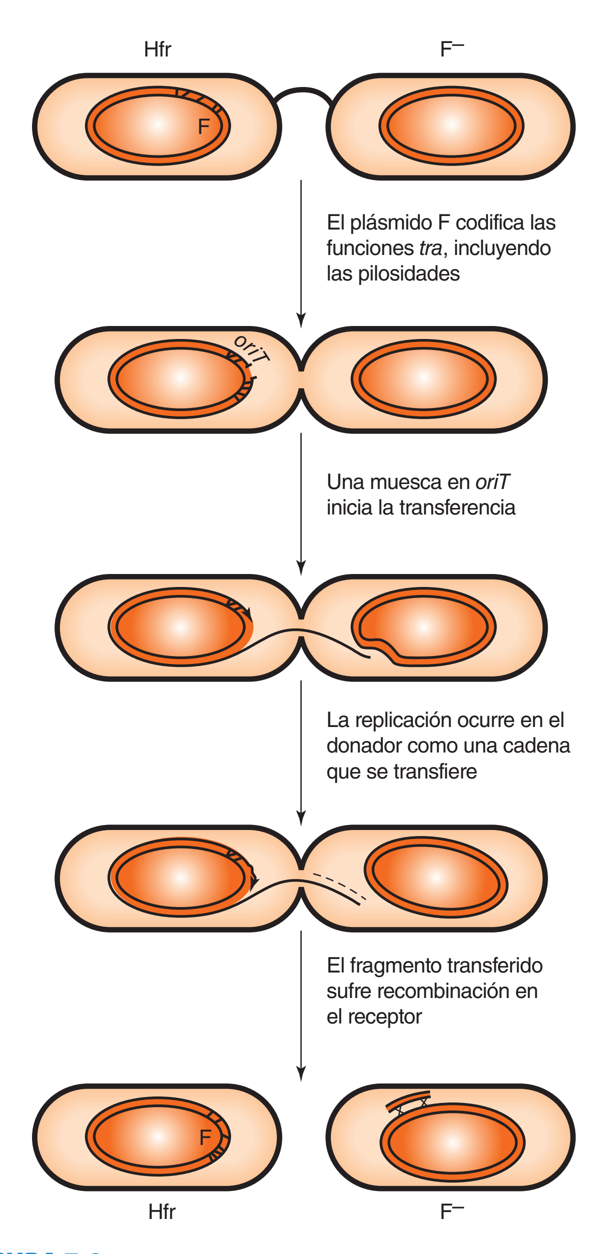


FIGURA 7-9 Transferencia de DNA cromosómico por un plásmido integrado. Formación de parejas de células, formación de una muesca en la secuencia F de *oriT* y transferencia del extremo 5′ de DNA monocatenario F continuando como una transferencia de plásmido F. Transferencia de DNA cromosómico con enlace covalente en tanto permanezca estable la pareja de células. Rara vez ocurre la transferencia de cromosomas completos de forma que la célula receptora permanece como F^- incluso después de la recombinación. La replicación en el donador por lo común acompaña la transferencia de DNA. También puede ocurrir cierta replicación de la cadena transferida. Una vez en la célula receptora, el DNA transferido puede sufrir la combinación con secuencias homólogas en el cromosoma receptor. (Redibujada con autorización de Snyder L, Champness W: *Molecular Genetics of Bacteria*, 2nd ed. ASM Press, 2002.)

ria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis y *Streptococcus pneumoniae*. Los fragmentos de DNA que contienen genes de tales organismos pueden ser identificados con facilidad con base en su capacidad para transformar células mutantes hacia un tipo silvestre. Estas técnicas representan un avance sustancial sobre los procedimientos laboriosos utilizados por Avery et al. para demostrar que el principio de transformación del neumococo era el DNA (fig. 7-1).

La transformación genética se reconoció como la fuerza principal en la evolución microbiana. La transformación natural es un proceso activo que demanda proteínas específicas producidas por la célula receptora. Para *Neisseria* y *Haemophilus* sp. son necesarias secuencias específicas de DNA (**secuencias de captación**) para la captación de DNA. Tales secuencias de captación son específicas y por tanto restringen el intercambio genético a una sola especie. El DNA que no se incorpora debe degradarse y utilizarse como fuente de nutrientes para sostener el crecimiento microbiano.

La mayor parte de las bacterias son incapaces de sufrir transformación natural. En tales casos la transformación puede ser forzada mediante tratamiento con cloruro de calcio y choque térmico. La transformación con plásmidos recombinantes de ingeniería genética mediante este procedimiento es la base de la biología molecular moderna porque permite que DNA de diversos orígenes biológicos se establezca como parte de replicones bacterianos bien identificados.

MUTACIÓN Y REORDENACIÓN GENÉTICA

Mutaciones espontáneas

Las mutaciones son cambios en las secuencias de DNA. Las mutaciones espontáneas para un gen dado en un entorno silvestre por lo general ocurren con una frecuencia de 10^{-6} a 10^{-8} en una población derivada de una sola bacteria (lo que depende de especies bacterianas y de las condiciones utilizadas para identificar la mutación). Las mutaciones incluyen **sustituciones de bases**, **deleciones**, **inserciones** y **reordenamientos**. Las sustituciones de bases pueden surgir como consecuencia de la colocación inapropiada de pares de bases entre bases complementarias durante la replicación. En el caso de *E. coli*, esto ocurre una vez cada 10^{10} veces que se incorpora un nucleótido; un proceso notablemente preciso. La aparición de colocación inapropiada de bases se reduce por la presencia de enzimas asociadas con la **reparación de errores**, un mecanismo que en esencia asegura que una cadena es perfectamente complementaria con su plantilla. Las enzimas de reparación de errores diferencian la cadena de síntesis reciente de la cadena preexistente con base en la metilación de adenina en las secuencias GATC de la cadena preexistente. Cuando el daño del DNA es demasiado extenso, un sistema de reparación especial de DNA, la **respuesta SOS**, rescata la célula en la cual se ha dañado el DNA. La **respuesta SOS** es un sistema de reparación de DNA después de la replicación, que permite que la replicación de DNA ocurra sin errores en el DNA.

Muchas sustituciones de base escapan a la detección al nivel fenotípico porque no alteran de manera significativa la función de los productos génicos. Por ejemplo, las **mutaciones de aminoácido** que resultan en la sustitución de un aminoácido por otro pueden tener un efecto fenotípico perceptible. Las **mutaciones interruptoras** terminan la síntesis de proteínas para dar origen a proteínas truncadas en el sitio de mutación. Los productos génicos de las mutaciones interruptoras suelen ser inactivos.

Las consecuencias de la deleción o inserción de mutaciones también son graves porque pueden alterar de manera drástica la secuencia de aminoácidos de los productos génicos. Como

se describe más adelante, la expresión precisa de secuencias de DNA depende de la traducción de codones de tripletes de nucleótidos en fase perfecta. La inserción o deleción de un solo nucleótido altera la fase de traducción y por tanto introduce una secuencia proteínica completamente diferente, distal al punto donde se encuentra el aminoácido que corresponde al codón alterado por la mutación.

Muchas mutaciones espontáneas son consecuencia de deleciones que eliminan grandes porciones de genes o incluso grupos de genes. Tales deleciones grandes implican recombinación entre secuencias repetidas directamente (p. ej., elementos IS) y casi nunca se revierten. Otras mutaciones espontáneas causan duplicación, con frecuencia en grupo o longitudes comparables de DNA. Dichas mutaciones por lo común son inestables y se revierten con facilidad. Otras mutaciones pueden invertir longitudes aún más largas de DNA o causar la transposición de tales secuencias a nuevos loci. Los mapas génicos comparativos de cepas bacterianas relacionadas han mostrado que tales reordenamientos pueden fijarse en poblaciones naturales. Estas observaciones apuntan al hecho de que la separación lineal de fragmentos de DNA no interrumpe por completo las posibilidades de interacción física y química entre ellos.

Mutágenos

La frecuencia de mutaciones se incrementa en gran medida por la exposición de las células a los mutágenos. La luz ultravioleta (UV) es un **mutágeno físico** que daña el DNA al unir bases cercanas de timina para formar dímeros (cap. 4). Pueden introducirse errores de secuencia durante la reparación enzimática de este daño genético. Los **mutágenos químicos** pueden actuar al alterar la estructura física o química del DNA. Los compuestos químicos reactivos alteran la estructura de las bases en el DNA. Por ejemplo, el ácido nitroso (HNO_2) sustituye grupos hidroxilo por aminoácidos. El DNA resultante tiene actividad de plantilla alterada durante las rondas subsiguientes de replicación. Las **mutaciones de cambio de marco** (introducción o eliminación de un par de bases del DNA) son causadas por deslizamiento ligero de las cadenas de DNA. Este deslizamiento es favorecido por los colorantes de acridina (p. ej., naranja de acridina), que puede intercalarse entre las bases.

En términos generales, el efecto directo de los mutágenos químicos o físicos es el daño al DNA. La mutación resultante se introduce por un proceso de replicación y escape de la reparación por las enzimas antes descritas. Las mutaciones que modifican la actividad de replicación o las enzimas de reparación pueden hacer más susceptibles a las bacterias a los mutágenos biológicos y se conocen como cepas mutantes.

Reversión y supresión

La recuperación de la actividad perdida como consecuencia de una mutación, lo que se conoce como **reversión fenotípica,** puede o no ocasionar el restablecimiento de la secuencia original de DNA, como sería obligado para la **reversión genotípica**. Con frecuencia una mutación en un segundo sitio (**mutación de supresión**) restablece la actividad perdida. En la **supresión intragénica**, después de que una mutación primaria ha cambiado la estructura enzimática de forma tal que se ha perdido su actividad, una segunda mutación en un sitio diferente en los genes de la enzima restablece la estructura necesaria para la actividad. La **supresión extragénica** es causada por una segunda mutación que se encuentra fuera del gen originalmente afectado.

EXPRESIÓN GÉNICA

La notable separación evolutiva de los genomas eucariota y procariota se ilustra al comparar sus mecanismos de expresión génica, los cuales comparten sólo un pequeño grupo de propiedades. En ambos grupos, la información genética se codifica en el DNA, se transcribe en el mRNA y se traduce en los ribosomas por medio de tRNA para dar origen a la formación de proteínas. Los codones del triplete de nucleótidos se utilizan en la traducción y por lo general son compartidos; muchas enzimas relacionadas con síntesis macromolecular en los dos grupos biológicos tienen propiedades similares. El mecanismo por el cual la secuencia de nucleótidos en un gen determina la secuencia de los aminoácidos en una proteína es muy similar en las células procariotas y eucariotas y consiste en lo siguiente:

1) La polimerasa de RNA forma una cadena de polirribonucleótidos, conocida como "RNA mensajero" (mRNA), utilizando DNA como plantilla; este proceso se denomina **transcripción**. El mRNA tiene una secuencia complementaria de nucleótidos para la plantilla en el DNA de doble hélice si se lee en la dirección 3′ a 5′. Así, una cadena de mRNA se orienta en dirección 5′ a 3′.

2) Ocurre activación enzimática de los aminoácidos con transferencia a moléculas adaptadoras específicas de RNA, conocidas como "RNA de transferencia" (tRNA). Cada molécula adaptadora tiene un triplete de bases (**anticodón**) complementario al triplete de bases en el mRNA y en un extremo su aminoácido específico. El triplete de bases en el mRNA se denomina **codón** para dicho aminoácido.

3) El mRNA y tRNA se encuentran juntos en la superficie del ribosoma. Conforme cada tRNA encuentra su triplete de nucleótidos complementarios en el mRNA, el aminoácido que transporta se coloca en la cadena peptídica con el aminoácido de la molécula de tRNA precedente. La enzima **peptidiltransferasa** (que es en realidad 23S rRNA, es decir, una **ribozima**) cataliza la formación del enlace peptídico. El ribosoma se desplaza a lo largo del mRNA, y el péptido crece en forma secuencial hasta que la totalidad del mRNA se traduce en una secuencia correspondiente de aminoácidos. Este proceso se denomina **traducción** y se ilustra en la figura 7-10.

En las células procariotas, los genes asociados con funciones relacionadas por lo común están agrupados o se presentan en forma de **operones**. Como no existe un núcleo, hay acoplamiento de la transcripción/traducción, lo que significa que el mRNA recién sintetizado se une al ribosoma y se traduce al mismo tiempo de su transcripción. Este acoplamiento de transcripción/traducción permite la respuesta rápida a los cambios en el entorno. De la misma forma que hay un recambio rápido del mRNA, tiene una semivida en el orden de segundos o minutos.

En células eucariotas, el agrupamiento de genes relacionados es poco común. Las **secuencias de incremento** son regiones del DNA eucariota que incrementan la transcripción y que pueden encontrarse distantes del gen transcrito. Los genes eucariotas portan **intrones**, inserciones de DNA que no se encuen-

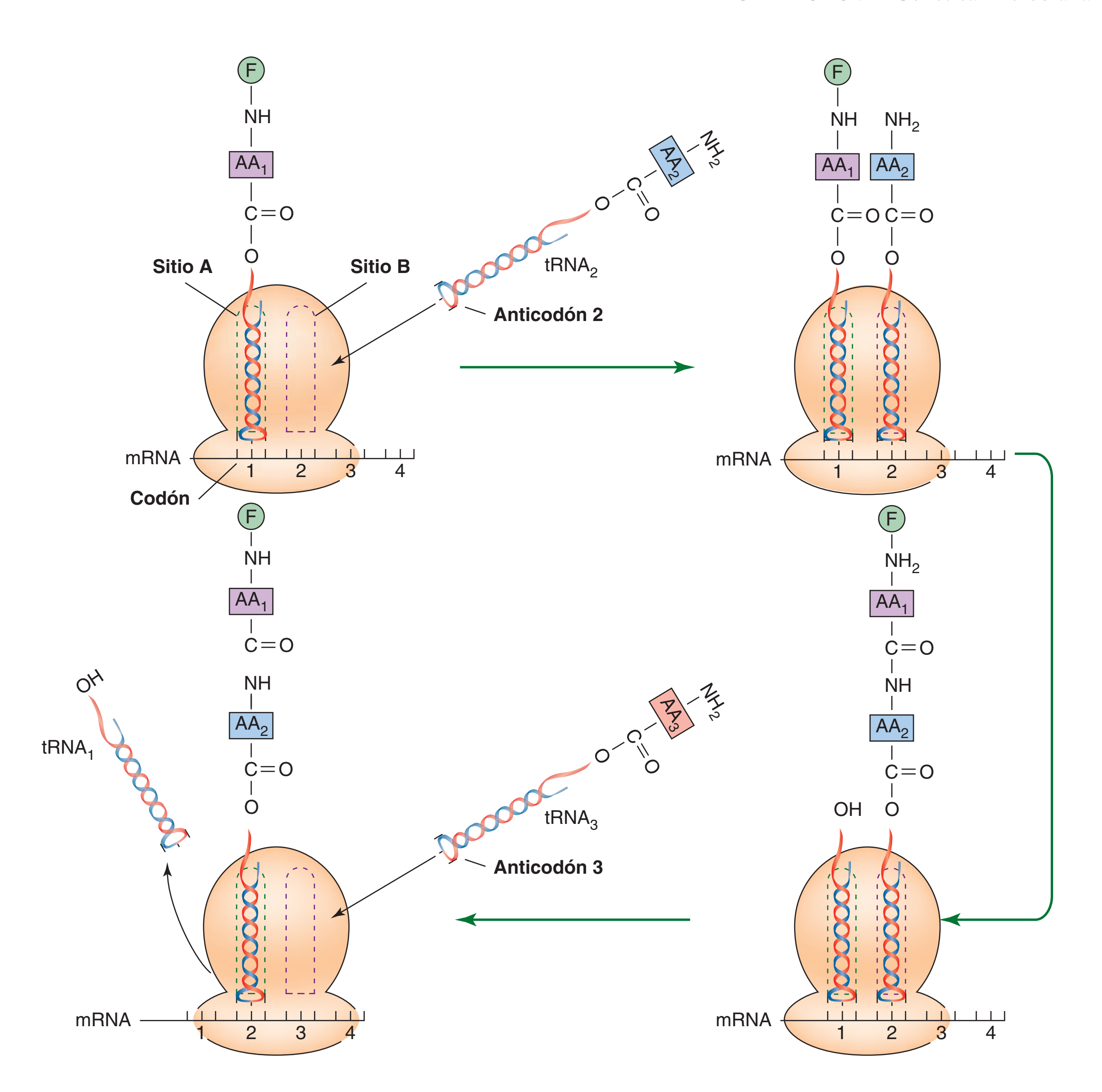


FIGURA 7-10 Cuatro etapas para la elongación de una cadena polipeptídica en la superficie de un ribosoma 70S. **Arriba a la izquierda:** una molécula de tRNA que porta el anticodón complementario para el codón 1 en un extremo y AA_1 en el otro extremo se une al sitio A. AA_1 se une a tRNA a través de su grupo carboxilo; su hidrógeno del grupo amino porta un grupo formilo (F). **Arriba a la derecha:** una molécula de tRNA porta AA_2 que se une al sitio B; su anticodón es complementario con el codón 2. **Abajo a la derecha:** un complejo enzimático cataliza la transferencia de AA_1 al grupo amino de AA_2, formando un enlace peptídico (obsérvese que la transferencia en dirección opuesta está bloqueada por la formilación previa del grupo amino de AA_1). **Abajo a la izquierda:** los ribosomas se desplazan a la derecha de forma tal que los sitios A y B se encuentran en codones opuestos 2 y 3; en el proceso, el tRNA se desplaza y se mueve al sitio A. El sitio B se encuentra nuevamente vacante y está listo para aceptar RNA_3, portando AA_3 (cuando el polipéptido se completa y se libera, el grupo formilo se elimina por medios enzimáticos). (Redibujada con autorización de Stanier RY, Doudoroff M, Adelberg EA: *The Microbial World*, 3rd ed. Copyright © 1970. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ.)

tran en genes procariotas. Los intrones separan a los **exones**, las regiones de codificación de los genes eucariotas. Los intrones transcritos son eliminados de la transcripción eucariota durante el procesamiento de RNA, una serie de reacciones enzimáticas que tienen lugar en el núcleo. El mRNA de células eucariotas es poliadenilado en el extremo 3′, lo que lo protege de las exonucleasas, de forma tal que pueden atravesar la membrana nuclear en el citosol, donde se ubican los ribosomas; en este caso, la traducción se encuentra desacoplada de la transcripción. Por esta poliadenilación, el mRNA eucariota tiene una semivida en términos de horas a días.

Los ribosomas eucariotas y procariotas difieren en muchos aspectos. Los ribosomas eucariotas son grandes y tienen un coeficiente de sedimentación de 80S en comparación con el coeficiente de sedimentación 70S de los ribosomas procariotas. Las subunidades ribosómicas eucariotas 40S y 60S son más grandes que las subunidades correspondientes 30S y 50S de las células procariotas y los ribosomas eucariotas son relativamente ricos en proteínas. Hay diferencias inherentes significativas en la sensibilidad de las actividades ribosómicas a los antibióticos (p. ej., tetraciclinas), muchas de las cuales causan inhibición selectiva de la síntesis proteínica en células procariotas pero no en el cito-

plasma de células eucariotas (cap. 9). Sin embargo, cabe recordar que los ribosomas **mitocondriales** en las células eucariotas son similares a los de las procariotas.

Regulación de la expresión génica en células procariotas

Las proteínas específicas, productos de genes reguladores, controlan la expresión de genes estructurales que codifican enzimas. La transcripción de DNA a mRNA inicia en el **promotor**, la secuencia de DNA que se une a la polimerasa de RNA. El nivel de expresión génica depende en parte de la capacidad del promotor para unirse a la polimerasa y la eficacia intrínseca de los promotores difiere ampliamente. Las proteínas reguladoras ejercen control adicional sobre la expresión génica; dichas proteínas pueden unirse a regiones de DNA cercanas a los promotores.

Muchos genes estructurales procariotas que codifican una serie de reacciones metabólicas se encuentran agrupados en **operones**. Esta serie contigua de genes se expresa como una transcripción de mRNA y la expresión de la transcripción puede ser controlada por un gen regulador único. Por ejemplo, cinco genes asociados con la biosíntesis de triptófano se agrupan en el operón *trp* de *E. coli*. La expresión génica es controlada por la atenuación, como se describe adelante y también es controlada por represión: la unión del triptófano con una **proteína represora** da origen a una conformación que permite la unión del **operador** *trp*, una secuencia corta de DNA que ayuda a regular la expresión génica. La unión de la proteína represora con el operador evita la transcripción de los genes *trp*. La represión puede percibirse como un mecanismo que controla el curso, un método de regulación génica de todo o nada. Esta forma de control es independiente de la atenuación, un mecanismo de control fino que se utiliza para controlar la expresión génica *trp*.

La **atenuación** es un mecanismo regulador de algunas vías biosintéticas (p. ej., vía biosintética del triptófano) que controla la eficiencia de la transcripción después que ésta se ha iniciado, pero antes que tenga lugar la síntesis de mRNA de los genes del operón, en especial cuando los productos terminales de la vía son escasos. Por ejemplo, bajo condiciones normales de crecimiento, la mayor parte de la transcripción de mRNA de *trp* termina antes de que alcancen los genes estructurales del operón *trp*. Sin embargo durante condiciones de carencia grave de triptófano, esa terminación prematura de la transcripción se suprime, lo que permite la expresión del operón en niveles 10 veces más altos de las que se observan en condiciones normales. La explicación para este fenómeno reside en la secuencia reguladora de 162 pares de bases frente a los genes estructurales *trp* (fig. 7-11) conocida como **secuencia líder** o *trpL*. La secuencia líder *trp* puede transcribirse en el mRNA y más tarde traducirse en un polipéptido de 14 aminoácidos con dos residuos de triptófano adyacentes, lo que ocurre con muy poca frecuencia. Al final de la secuencia *trpL* y hacia las señales reguladoras que controlan la traducción de los genes estructurales *trp* se encuentra el **codón finalizador independiente Rho**. La secuencia de DNA de esta región sugiere que el mRNA codificado tiene una alta probabilidad de formar **estructuras secundarias de asa y tallo** . Éstas se han denominado como **asa de pausa** (1:2), **asa finalizadora** (3:4) y **asa antifinalizadora** (2:3). La atenuación del operón *trp* utiliza una estructura secundaria de mRNA para percibir la cantidad de triptófano en la célula (como trp-tRNA) de acuerdo al modelo que se muestra en la figura 7-11.

La prevención de la transcripción por una proteína represora se denomina **control negativo**. La forma opuesta de regulación transcripcional (inicio de la transcripción en respuesta a la unión con una **proteína activadora**) se conoce como **control positivo**. Ambas formas de control se ejercen sobre la expresión del operón *lac*, que son genes relacionados con la fermentación de lactosa en *E. coli*. Los operones contienen tres genes estructurales. El transporte de lactosa en la célula está mediada por el producto del gen *lac*. La β galactosidasa es la enzima que hidroliza la lactosa a galactosa y glucosa y es codificada por el gen *lacZ*. El producto del tercer gen (*lacA*) es una transacetilasa cuya función no se ha dilucidado claramente.

Como un producto secundario de su función normal, la β galactosidasa produce alolactosa, un isómero estructural de la lactosa. La lactosa por sí misma no influye en la regulación transcripcional; más bien su función depende de la alolactosa, la cual es un **inductor** del operón *lac* porque su metabolito desencadena directamente la expresión génica. En ausencia de la alolactosa, el represor *lac*, que es un producto controlado de manera independiente por el gen *lacI* ejerce control negativo sobre la transcripción del operón *lac* al unirse con el operador *lac*. En presencia del inductor, se libera el represor del operador y ocurre la transcripción.

La expresión del operón *lac* y de muchos otros operones relacionados con la generación de energía se incrementa por la unión con la **proteína transportadora de AMP cíclico (CAP)** a una secuencia específica de DNA cerca del promotor para el operón regulado. La proteína ejerce control positivo al incrementar la actividad de la polimerasa de RNA. El metabolito que desencadena el control positivo al unirse a CAP es el 3′,5′-AMP cíclico (cAMP). Este compuesto formado en células privadas de energía, actúa a través de CAP para incrementar la expresión de las enzimas catabólicas que dan origen a un incremento en la energía metabólica.

El AMP cíclico no es el único con la capacidad de ejercer control sobre los genes no relacionados en *E. coli*. Varios genes diferentes responden al nucleótido ppGpp (en el cual "p" denota fosfodiéster y "G" indica guanina) como señal de ausencia de un aminoácido y los genes no relacionados se expresan como parte de la respuesta SOS al daño del DNA. Otro grupo de genes no relacionados se activa en respuesta al golpe de calor. Esta respuesta se encuentra tanto en células procariotas como eucariotas.

La dilucidación de los sistemas procariotas de control transcripcional ha demostrado ser de utilidad tanto desde el punto de vista técnico como en el aspecto conceptual. El operón *lac* ha proporcionado un modelo útil para estudios comparativos de expresión génica. Por ejemplo, el fenómeno de represión, descrito claramente para el operón *lac* explica la respuesta lisógena a la infección por fagos atemperados como λ. Estudios del sistema *lac* de *E. coli* han proporcionado muchos derivados genéticos que son útiles en la ingeniería genética. La inserción de DNA extraño en plásmidos para formar **vectores recombinantes** se vigila con frecuencia por medios fenotípicos mediante el uso de pruebas de color para vigilar la desactivación de inserción del gen *lacY* y a menudo se utiliza el promotor *lac* para lograr el control de la expresión de los genes insertados.

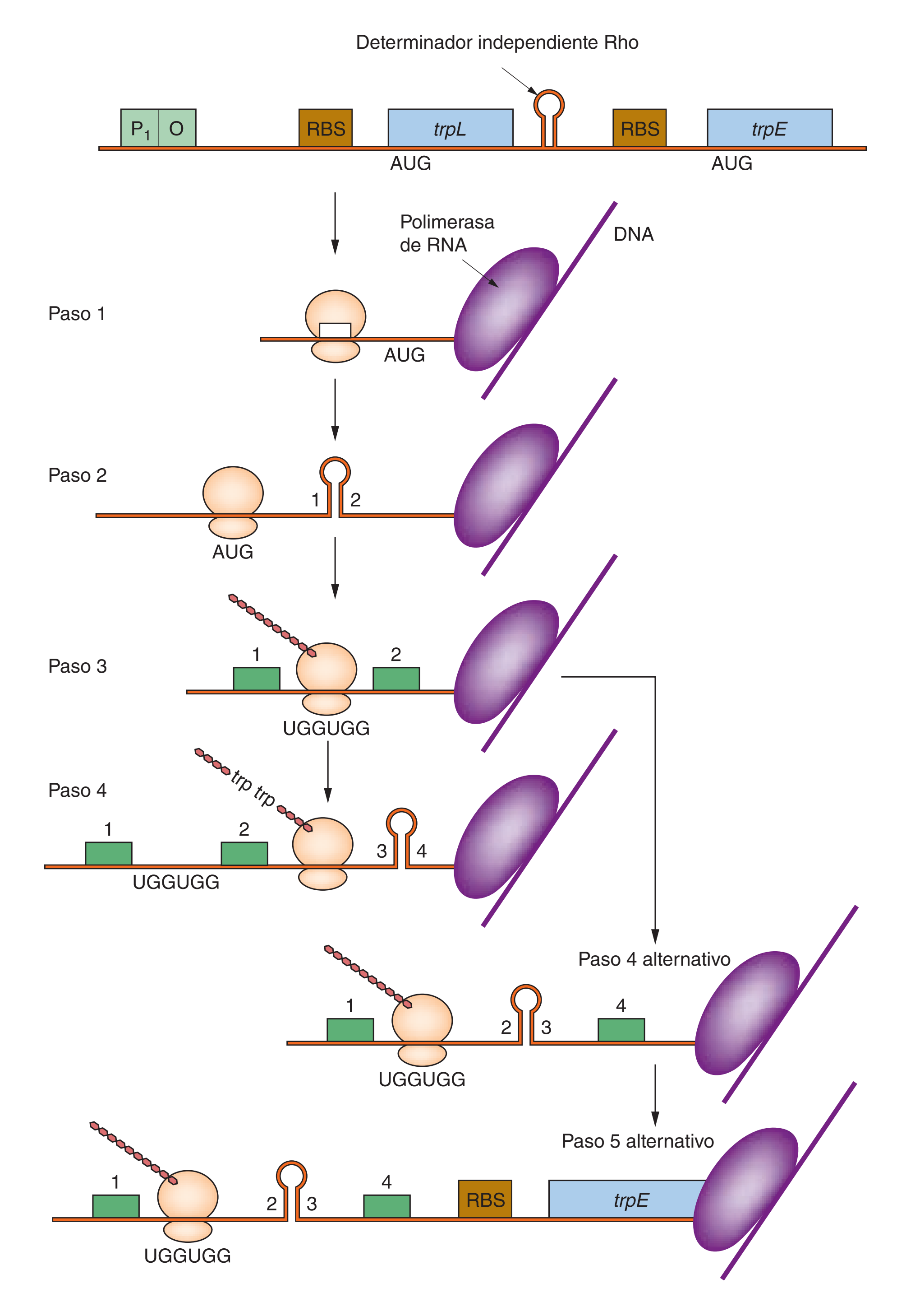


FIGURA 7-11 Predicciones del modelo de atenuación. **Paso 1.** El acoplamiento de transcripción/traducción tiene lugar como para cualquier gen bacteriano. **Paso 2.** La polimerasa de RNA hace pausa y se forma un asa 1:2. **Paso 3.** Los ribosomas interrumpen en el asa 1:2 y se encuentran con dos codones *trp*. **Paso 4.** Si hay suficiente triptófano presente los RNA cargados con *trp* se encuentran presentes y los ribosomas realizarán la traducción de *trpL*. Esto causa que la polimerasa de RNA se interrumpa en el determinador independiente Rho compuesto por un asa 3:4. **Paso 4 alternativo.** Si hay limitación del triptófano (sin trp-tRNA), los ribosomas se detienen en los dos codones *trp*, en tanto que la polimerasa de RNA continúa. Se forma el asa 2:3. **Paso 5 alternativo.** El determinador 3:4 no puede formarse y la polimerasa de RNA continúa la transcripción en genes estructurales *trp*. Esto expone el sitio de unión del ribosoma (RBS) antes de *trpE*, lo que permite la traducción. (Reproducida con autorización de Trun N, Trempy J: *Fundamental Bacterial Genetics*. Blackwell Science Ltd, 2004.)

INGENIERÍA GENÉTICA

La ingeniería es la aplicación de las ciencias a las necesidades sociales. En años recientes la ingeniería basada en genética bacteriana ha transformado a la biología. Es posible aislar fragmentos específicos de DNA y amplificarse y sus genes pueden expresarse en concentraciones elevadas. La especificidad de los nucleótidos necesarios para el desdoblamiento de las enzimas de restricción permite que los fragmentos que contienen genes o partes de los mismos se unan (incorporen) a los plásmidos

(“vectores”) que pueden usarse a su vez para transformar a las células bacterianas. Las colonias bacterianas o **clonas** portan genes específicos que pueden identificarse por **hibridación** de DNA o RNA con **sondas marcadas** (similares a las que se muestran en la figura 3-4). Los productos proteínicos codificados por los genes pueden identificarse ya sea por actividad enzimática o por técnicas inmunológicas. Este último procedimiento ha incrementado en gran medida la selectividad notable con la cual se unen los **anticuerpos monoclonales** (cap. 8) a determinantes antigénicos específicos en las proteínas. Así, pueden utilizarse técnicas de ingeniería genética para aislar prácticamente cualquier gen y dichos genes pueden expresarse de forma tal que es posible estudiar o explotar las propiedades bioquímicas identificables.

Los genes aislados pueden utilizarse para diversos propósitos. La **mutagénesis de sitio dirigido** puede identificar y alterar la secuencia de DNA de un gen. Es posible determinar y, si se desea, alterar los residuos de nucleótidos esenciales para las funciones de los genes. Con las técnicas de hibridación el DNA puede utilizarse como una sonda que reconozca los ácidos nucleicos correspondientes a las secuencias complementarias de su propio DNA. Por ejemplo, un virus latente en un tejido animal se detecta con una sonda de DNA incluso en ausencia de infección viral evidente. Los productos proteínicos de los genes virales aislados ofrecen una gran promesa como vacunas porque se preparan sin genes que codifican la replicación de ácido nucleico viral. Además, proteínas como la insulina que tienen funciones útiles pueden prepararse en grandes cantidades a partir de bacterias que expresan los genes clonados.

Preparación de fragmentos de DNA con enzimas de restricción

La diversidad genética de las bacterias se refleja por su amplia gama de **enzimas de restricción** , las cuales poseen una selectividad notable que les permite identificar regiones específicas de DNA para su desdoblamiento. Las secuencias de DNA reconocidas por enzimas de restricción son de manera predominante palíndromos (secuencias de repeticiones invertidas). Una secuencia típica en palíndromo, reconocida por *Eco*R1, una enzima de restricción utilizada con frecuencia, es GAATTC; la repetición invertida, inherente en su complementariedad en los pares de bases G-C y A-T, da origen a la secuencia 5′ TTC que se refleja como AAG en la cadena 3′.

La longitud de los fragmentos de DNA producidos por enzimas de restricción varía en gran medida por la individualidad de secuencias de DNA. La longitud promedio de los fragmentos de DNA depende en gran parte del número de bases específicas reconocidas por una enzima. La mayoría de las enzimas de restricción reconoce cuatro, seis u ocho secuencias de bases; sin embargo, otras enzimas de restricción reconocen 10, 11, 12 o 15 secuencias de bases. El reconocimiento de cuatro bases da origen a fragmentos con una longitud promedio de 250 pares de bases y por tanto suele ser útil para el análisis o manipulación de fragmentos génicos. Con frecuencia genes completos son abarcados por enzimas de restricción que reconocen seis bases y producen fragmentos con un tamaño promedio de 4 kbp. Las enzimas de restricción que reconocen ocho bases producen fragmentos con un tamaño típico de 64 kbp y son útiles para el análisis de regiones genéticas grandes. Las enzimas de restricción que reconocen más de 10 bases son útiles para la construcción de un mapa físico y de la tipificación molecular mediante electroforesis en gel en un campo de pulsos.

Separación física de fragmentos de DNA de tamaño diferente

Gran parte de la simplicidad de las técnicas de ingeniería genética yace en el hecho de que la **electroforesis en gel** permite la separación de fragmentos de DNA con base en el tamaño (fig. 7-12); mientras más pequeños los fragmentos, más rápida será la tasa de migración. La tasa general de migración y el intervalo óptimo de tamaño para la separación puede determinarse con base en la naturaleza química del gel y el grado de formación de enlaces cruzados. Los geles con alto grado de enlaces cruzados optimizan la separación de fragmentos pequeños de DNA. El colorante **bromuro de etidio** forma un aducto de color fluorescente brillante que se une al DNA, de forma que pequeñas cantidades de fragmentos separados de DNA pueden visualizarse sobre los geles (fig. 7-12 A). Fragmentos específicos de DNA pueden identificarse por sondas que contienen secuencias complementarias (fig. 7-12B y C).

La electroforesis en gel en campo de pulsos permite la separación de fragmentos de DNA que contienen hasta 100 kbp que se separan en geles de poliacrilamida de alta resolución. La identificación de fragmentos tan grandes ha permitido la construcción de un mapa físico para los cromosomas de varias especies bacterianas y han sido de gran utilidad para la identificación de huellas genéticas de aislados bacterianos relacionados con brotes epidémicos de enfermedades infecciosas.

Clonación de fragmentos de restricción de DNA

Muchas enzimas de restricción producen desdoblamiento asimétrico y fragmentos de DNA con **extremos cohesivos (adhesivos)** que pueden hibridizarse con otros fragmentos. Este DNA puede utilizarse como donador con un plásmido receptor para formar un plásmido recombinante por medio de ingeniería genética. Por ejemplo, el desdoblamiento de DNA con *Eco*R1 produce DNA que contiene una secuencia AATT en el extremo 5′ y la secuencia complementaria TTAA en el extremo 3′ (fig. 7-13). El desdoblamiento de un plásmido (una pieza circular de DNA) con la misma enzima de restricción produce un fragmento lineal con extremos adhesivos que son idénticos uno con otro. La eliminación enzimática de los tres grupos fosfato de estos extremos asegura que no se unirán para formar el plásmido circular original. La ligadura en presencia de otros fragmentos de DNA que contienen grupos fosfato produce **plásmidos recombinantes**, que contienen fragmentos de DNA que se introducen con enlaces covalentes en el DNA circular cerrado. Los plásmidos deben ser de forma circular a fin de replicarse en la bacteria que actúa como hospedador.

Los plásmidos recombinantes pueden introducirse en el hospedador bacteriano, con frecuencia *E. coli*, por medio de transformación. La **electroporación** es un procedimiento desarrollado en fechas recientes que introduce DNA en la bacteria utilizando un gradiente eléctrico. Las células transformadas pueden seleccionarse con base en uno o más factores de resistencia a fármacos codificados por los genes de los plásmidos. La

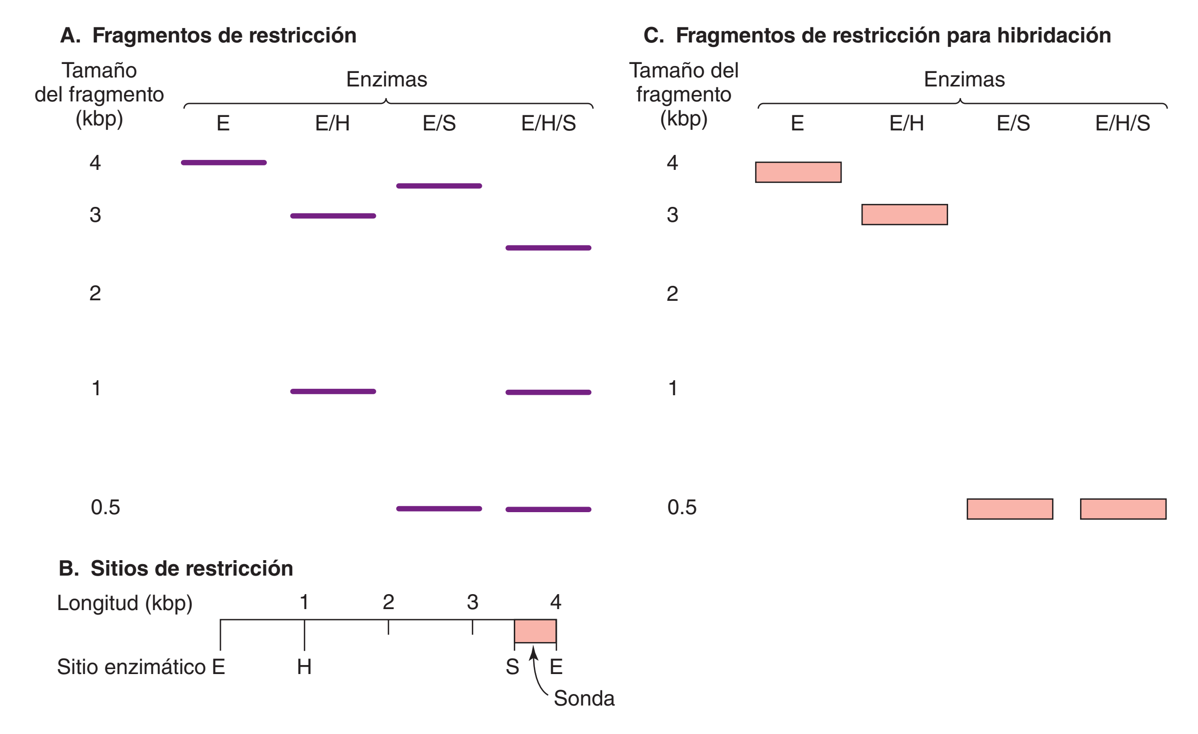


FIGURA 7-12 **A:** Separación de los fragmentos de DNA con base en el tamaño por electroforesis en HELLP. Los fragmentos pequeños migran con mayor rapidez que los fragmentos grandes y en un intervalo determinado por las propiedades del gen, la distancia de migración proporciona en términos generales el logaritmo del tamaño del fragmento. Los fragmentos de DNA pueden visualizarse con base en su fluorescencia después de la tinción con colorante. **B:** El tamaño de los fragmentos de restricción depende de su ubicación en los sitios de restricción en el DNA. En este ejemplo, un fragmento de 4.0 pares de kilobases (kbp) formado por enzimas de restricción *Eco*R1 (E) contiene los sitios respectivos para las enzimas de restricción *Hin*dIII (H) y *Sal*I (S) en las posiciones correspondientes a 1.0 y 3.5 kbp. El patrón de electroforesis en **A** revela que la enzima de restricción E no corta el fragmento de 4.0 kbp (primer trayecto); el desdoblamiento con enzima de restricción H produce fragmentos de 3.0 y 1.0 kbp (segundo trayecto); el desdoblamiento con enzima de restricción S da origen a fragmentos de 3.5 y 0.5 kbp (tercer trayecto) en tanto que el desdoblamiento de los fragmentos H y S forma fragmentos de 2.5, 1.0 y 0.5 kbp (cuarto trayecto). Los fragmentos de 0.5 kbp se encuentran entre los sitios S y E, que se eligieron como sonda para determinar el DNA con secuencias de hibridación, como se muestra en **C**. **C:** Identificación de fragmentos de hibridación. Los fragmentos de restricción se separaron como se observa en **A**. El procedimiento de hibridación revela los fragmentos que se sometieron a hibridación con una sonda de 0.5 kbp. Éstos son fragmentos de 4.0 kbp formados por enzimas de restricción E, el fragmento de 3.0 kbp que se encuentra entre los sitios E y H y el fragmento de 0.5 kbp que se encuentra entre los sitios S y H.

población bacteriana resultante contiene una **biblioteca** de plásmidos recombinantes que portan varias clonas de fragmentos de restricción insertados, derivados del DNA del donador. Pueden utilizarse técnicas de hibridación para identificar colonias bacterianas que portan fragmentos específicos de DNA o, si el plásmido expresa el gen insertado, pueden estudiarse las colonias en busca de los productos génicos (fig. 7-14).

IDENTIFICACIÓN DEL DNA CLONADO

Mapa de restricción

La manipulación del DNA clonado requiere la comprensión de su secuencia de ácidos nucleicos. La preparación de un **mapa de restricción** es la primera etapa en la obtención de dicho conocimiento. Un mapa de restricción se construye en forma muy similar a un rompecabezas a partir de fragmentos producidos por **digestión simple**, los cuales se preparan con enzimas de restricción individuales y con procesos de **doble digestión**, en los que se forman pares de enzimas de restricción. Los mapas de restricción también son el paso inicial hacia la secuenciación de DNA porque identifican fragmentos que proporcionarán **subclonas** (fragmentos relativamente pequeños de DNA) que se someten a un análisis más riguroso, que puede incluir la secuenciación del DNA. Además, los mapas de restricción proporcionan información muy específica con respecto a las bases, que permite que los fragmentos de DNA, que se identifican con base en el tamaño, se asocian con funciones génicas específicas.

Secuenciación

La secuenciación de DNA muestra la estructura génica y permite que los investigadores deduzcan la estructura de los productos génicos. A su vez, esta información hace posible manipular los genes en orden para comprender o alterar su función. Además, el análisis de secuencias de DNA revela regiones reguladoras que controlan la expresión génica y "puntos calientes" genéticos que son en particular susceptibles a la mutación. La comparación de secuencias de DNA revela relaciones evolutivas que proporcionan un marco de referencia para la clasificación sin ambigüedades de organismos y virus. Tales comparaciones pueden facilitar la identificación de regiones conservadas que pueden ser en especial útiles como sondas específicas de hibridación para detectar organismos o virus en una muestra clínica.

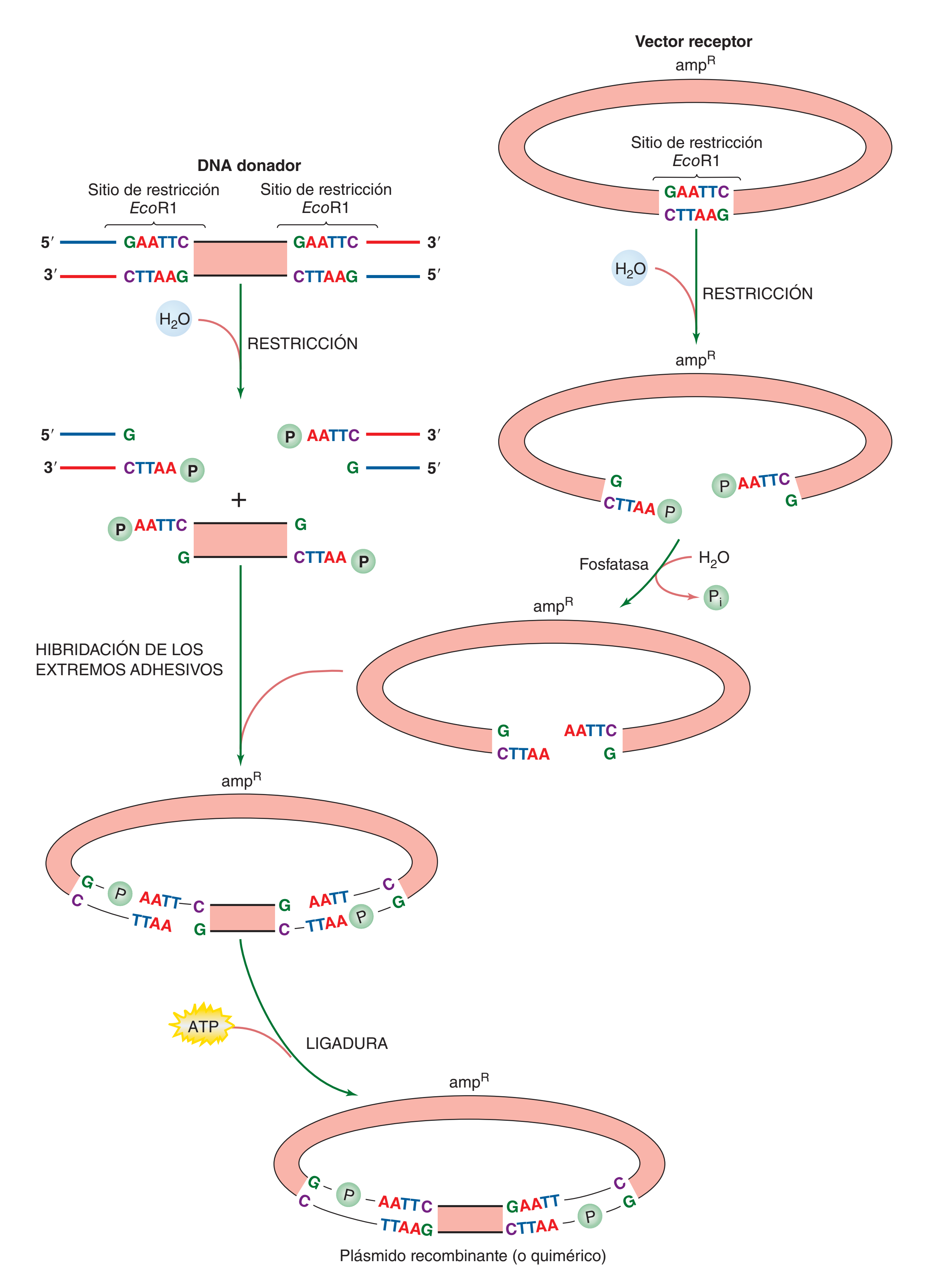


FIGURA 7-13 Formación de un plásmido recombinante o quimérico a partir de DNA donador y un vector del receptor. El vector es un plásmido que porta el sitio de restricción *Eco*R1, que sufre desdoblamiento por enzimas y se prepara para ligadura mediante la eliminación de los grupos fosfato terminales. Este paso evita que los extremos adhesivos del plásmido se unan en ausencia de material insertado. El DNA donador se trata con las mismas enzimas de restricción y un enlace covalente cierra la molécula mediante una ligadura. Un marcador de resistencia farmacológica, mostrado como amp^R en el plásmido puede utilizarse para seleccionar los plásmidos recombinantes después de su transformación en la *Escherichia coli*. Las enzimas de la bacteria hospedadora completan el enlace covalente del DNA circular y median su replicación.

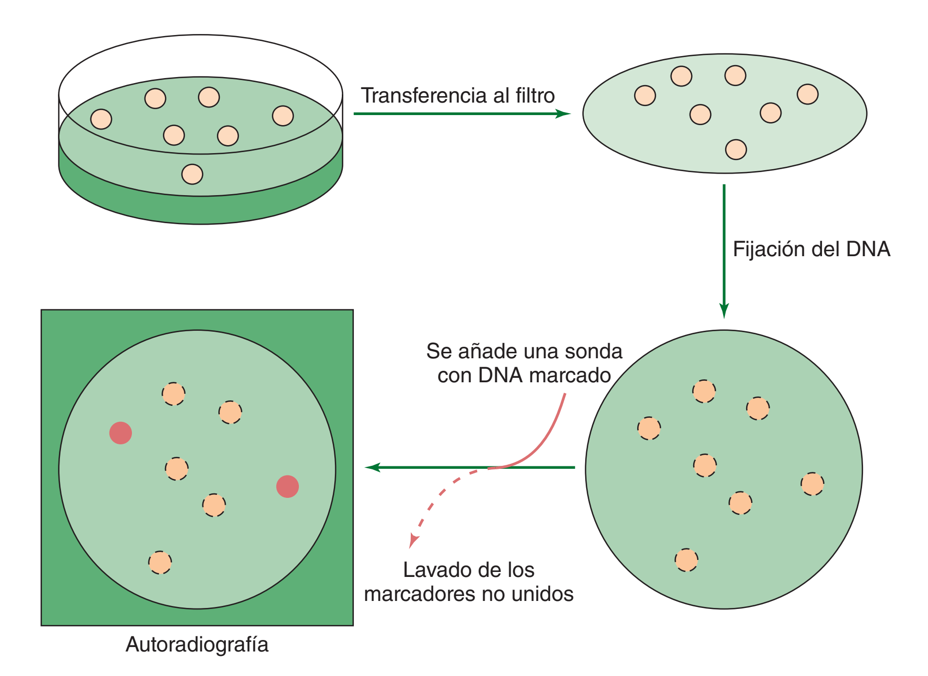


FIGURA 7-14 Uso de sondas para identificar clonas que contienen fragmentos específicos de DNA. Las colonias pueden transferirse a un filtro y calentarse de forma tal que las células se destruyan y el DNA se adhiera al filtro. Más tarde, el filtro puede ser tratado con una solución que contenga una sonda de DNA marcada en forma apropiada, lo que produce hibridación específica con las clonas deseadas. La autorradiografía subsiguiente del filtro identifica estas clonas (*círculos oscuros*). Las clonas también pueden ser expuestas a sondas con anticuerpos para saber si sintetizan un producto proteínico específico.

Los dos métodos generalmente empleados para determinar la secuencia de DNA son la **técnica de Maxam-Gilbert**, que depende de la relativa debilidad química de varios enlaces de nucleótidos y el **método de Sanger (terminación didesoxi)**, que interrumpe la elongación de secuencias de DNA al incorporar didesoxinucleótidos en las secuencias. Ambas técnicas producen un grupo de oligonucleótidos que inician de un solo origen que implica la separación de cadenas de secuencias de DNA en gel que difieren por el incremento de un solo nucleótido. La secuenciación en gel de poliacrilamida separa cadenas que difieren en longitud desde uno hasta varios cientos de nucleótidos y revela secuencias de DNA de longitudes variables.

Cuatro trayectos paralelos sobre el mismo gel revelan la longitud relativa de las cadenas sometidas a terminación didesoxi en adenina, citidina, guanina y timidina. La comparación de los cuatro trayectos que contienen la reacción se mezcla de forma tal que difieren únicamente en el método de terminación de la cadena, lo que hace posible determinar la secuencia de DNA por el método de Sanger (fig. 7-15). La relativa simplicidad del método de Sanger ha conducido a su uso más generalizado, pero la técnica de Maxam-Gilbert se emplea ampliamente porque puede exponer regiones de DNA que están protegidas por proteínas específicas contra modificaciones químicas.

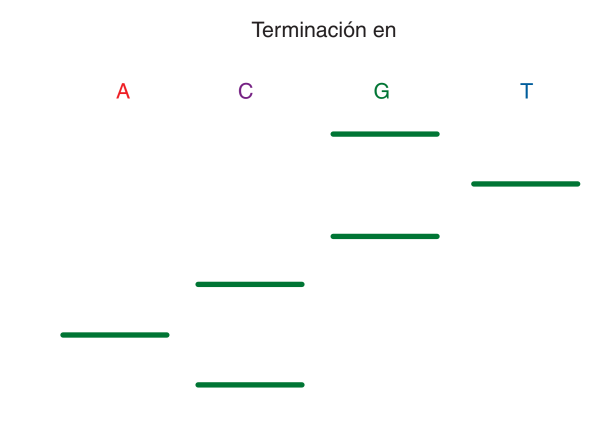


FIGURA 7-15 Determinación de la secuencia de DNA por el método de Sanger (terminación didesoxi). La elongación enzimática del DNA se interrumpe por la inclusión de análogos didesoxi de trinucleótidos correspondientes con A, C, G y T por separado en mezclas de reacciones paralelas. El grupo resultante de cadenas elongadas interrumpidas se separa por secuenciación en gel y puede deducirse la secuencia al notar la base que corresponde a cada incremento en la longitud de la cadena. La secuenciación en gel se lee de abajo hacia arriba, y cada línea corresponde a un incremento en una base.

La secuenciación de DNA se facilita en gran medida por la manipulación genética del bacteriófago M13 de *E. coli*, el cual contiene DNA monocatenario. La forma retrospectiva del DNA del fago es un DNA bicatenario circular cerrado por un enlace covalente, producido por ingeniería genética de forma tal que contenga un sitio de clonación múltiple que permita la integración de fragmentos específicos de DNA que se han identificado previamente por mapeo de restricción. Las bacterias infectadas con la forma recreativa secretan fagos modificados que contienen, en el interior de su envoltura proteínica, DNA monocatenario que incluye la secuencia insertada. Este DNA actúa como **plantilla** para reacciones de elongación. El origen para la elongación depende de un **cebador** de DNA que puede sintetizarse por máquinas automatizadas para la **síntesis química de**

oligonucleótidos. Tales máquinas pueden producir cadenas de DNA que contienen 75 o más oligonucleótidos en una secuencia predeterminada y son esenciales para la secuenciación y para la modificación del DNA por mutagénesis dirigida al sitio.

Los oligonucleótidos sintetizados por medios químicos pueden servir como cebadores para la **reacción en cadena de polimerasa (PCR)**, un procedimiento que permite la amplificación y secuenciación del DNA que se encuentra entre los cebadores. Así, en muchos casos, el DNA no necesita ser clonado a fin de secuenciarse o para que esté disponible para procedimientos de ingeniería genética.

El estudio de la biología se ha revolucionado con el desarrollo de tecnología que permite la secuenciación y análisis de la totalidad de los genomas, que varía desde virus, microorganismos unicelulares procariotas y eucariotas hasta seres humanos. Esto se ha facilitado con el uso de un procedimiento conocido como **escopetazo (*shotgunning*)**. En este procedimiento, el DNA se rompe en fragmentos más pequeños para crear una biblioteca de fragmentos. Tales fragmentos desordenados son secuenciados por secuenciadores de DNA automáticos y se reensamblan utilizando programas de cómputo poderosos. Un número suficiente de fragmentos son secuenciados para asegurar que se abarque la totalidad del genoma de forma que cuando se ensamblen, la mayor parte del genoma se ha representado sin dejar demasiadas brechas. Para lograr esto, la totalidad del genoma por lo común se revisa cinco a ocho veces, con lo que se deja casi 0.1% del total de DNA sin secuenciar. Después que los fragmentos aleatorios se han ensamblado por medio de áreas con superposición de secuencias, todos los espacios remanentes deben identificarse y cerrarse. Los datos avanzados de procesamiento permiten la anotación de los datos de la secuencia en la cual se identifican regiones putativas de codificación, operones y secuencias reguladoras. Los genomas de varios microorganismos importantes han sido secuenciados. El análisis continuo de los datos de secuenciación de patógenos humanos importantes combinados con los estudios de patogenia molecular facilitará la comprensión de la forma en que estos organismos causan enfermedad y por último, llevarán a la producción de mejores vacunas y mejores estrategias terapéuticas.

MUTAGÉNESIS DIRIGIDA AL SITIO

La síntesis química de oligonucleótidos permite a los investigadores realizar una introducción controlada de sustituciones de bases en la secuencia de DNA. La sustitución especificada puede utilizarse para explorar los efectos de una mutación prediseñada sobre la expresión génica, con el fin de examinar la contribución de un aminoácido sustituido para una función proteínica o (con base en la información previa con respecto a los residuos esenciales para su función) a fin de inactivar un gen. Los oligonucleótidos monocatenarios que contienen la mutación específica se sintetizan por medios químicos y se someten a hibridación con un fago con DNA monocatenario, el cual lleva insertada la secuencia silvestre (fig. 7-16). El DNA bicatenario parcialmente resultante se convierte por medios enzimáticos a una forma bicatenaria replicativa. Este DNA, que contiene la secuencia sil-

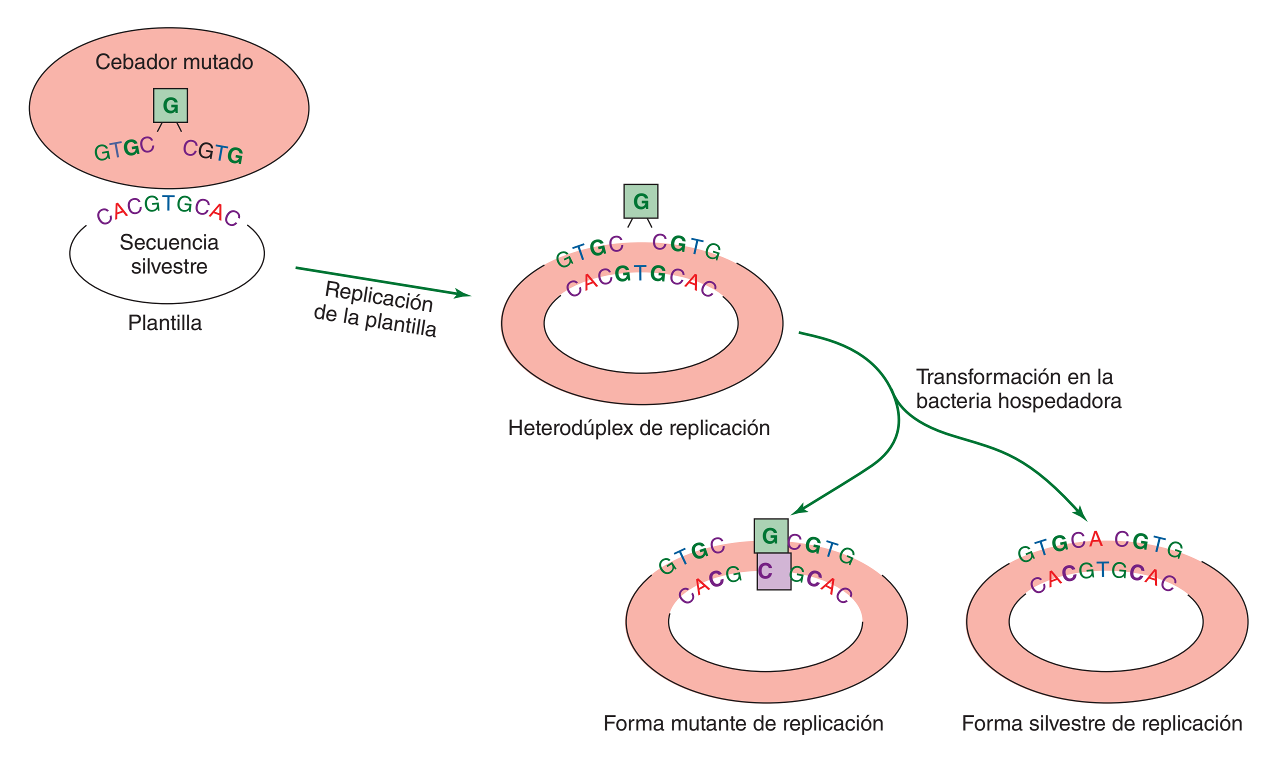


FIGURA 7-16 Mutagénesis dirigida al sitio. Un cebador sintetizado por medios químicos que contiene la mutación G (*en el recuadro*) se hibridiza con una secuencia silvestre insertada en el DNA a partir de un fago monocatenario. Se utilizan reacciones de polimerización para formar heterodúplex bicatenario que porta la mutación en una cadena. La introducción del heterodúplex en la bacteria hospedadora seguida de segregación produce cepas que portan la forma de replicación con el DNA silvestre insertado o un fragmento insertado que adquiere la mutación química diseñada.

vestre en una cadena y la secuencia mutante en otra se utiliza para infectar a la bacteria que actuará como hospedador mediante transformación. La replicación da origen a la segregación de DNA mutante y silvestre y el gen mutante bicatenario puede ser aislado y más tarde clonado a partir de la forma replicativa del fago.

ANÁLISIS CON DNA CLONADO: SONDAS DE HIBRIDACIÓN

Las sondas de hibridación (transferencia de Southern, fig. 3-4) se utilizan de manera habitual para la clonación de DNA. La secuencia de aminoácidos de una proteína puede utilizarse para deducir la secuencia de DNA por medio de la cual puede construirse una sonda y emplearse para detectar colonias bacterianas que contengan el gen clonado. El **DNA complementario (cDNA)** codificado por mRNA puede utilizarse para detectar el gen que codifica dicho mRNA. La hibridación de DNA a RNA por el método de membrana de **Northern** puede proporcionar información cuantitativa con respecto a la síntesis de RNA. Las secuencias específicas de DNA en fragmentos de restricción separados en gel pueden revelarse por medio del método de **transferencia de Southern**, un método que utiliza la hibridación de DNA a DNA. Estos métodos pueden utilizarse para detectar superposición de fragmentos de restricción. La clonación de estos fragmentos hace posible aislar las regiones que rodean al DNA por una técnica conocida como **deslizamiento cromosómico**. Otra técnica de detección empleada con frecuencia es la **transferencia de tipo Western** , donde se utilizan anticuerpos para detectar genes clonados mediante la unión con sus productos proteínicos.

Pueden utilizarse sondas en una amplia gama de procedimientos analíticos. Algunas regiones de DNA humano muestran variación sustancial en la distribución de sitios de restricción. Esta variabilidad se denomina **polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción** (RFLP, *restriction fragment length polymorphism*). Las ondas de oligonucleótidos que producen hibridación con fragmentos de DNA de RFLP pueden utilizarse para rastrear DNA a partir de muestras pequeñas de su donador humano. Así, la técnica es útil para la ciencia forense. Las aplicaciones de RFLP para la medicina incluyen la identificación de regiones genéticas que tienen relación estrecha con genes humanos con disfunción que están relacionados con enfermedades genéticas. Esta información ha sido de gran utilidad y continúa siéndolo en el **asesoramiento genético**.

Las sondas de DNA ofrecen la promesa de técnicas para la identificación rápida de microorganismos de crecimiento lento en muestras clínicas que son difíciles de cultivar en un laboratorio de microbiología. Además, extensiones de la técnica ofrecen oportunidades para identificar agentes patógenos en forma rápida y directa en tejidos infectados. Se encuentran disponibles en el comercio equipos para la identificación de muchos patógenos bacterianos y virales.

La aplicación de sondas diagnósticas de DNA requiere apreciar: 1) a las sondas mismas; 2) a los sistemas utilizados para detectar las sondas; 3) los objetivos (el DNA con el cual ocurrirá hibridación con las sondas), y 4) las condiciones de la hibridación. Las sondas pueden ser fragmentos de restricción relativamente grande derivados del DNA clonado o de oligonucleótidos correspondientes a una región específica del DNA. Las sondas grandes pueden proporcionar gran precisión porque son menos sensibles a los cambios de una sola base en el DNA estudiado. Por otra parte, las reacciones de hibridación ocurren con mayor rapidez con sondas pequeñas, y pueden ser diseñadas contra regiones conservadas de DNA en las cuales es poco probable que ocurran sustituciones de bases. Las amplificaciones de una región estudiada por PCR seguida por detección de un producto amplificado después de hibridación con una sonda han demostrado mayor sensibilidad que los métodos de detección directa.

En fechas recientes han ocurrido mejorías significativas en los métodos para pruebas diagnósticas moleculares, en especial aquellas que incorporan tecnologías de amplificación de ácidos nucleicos como PCR. En el comercio se encuentran disponibles varios instrumentos que combinan la amplificación de PCR del DNA estudiado de amplicones en el mismo contenedor cerrado. Esta tecnología se conoce como **PCR en tiempo real**, lo que implica que los amplicones de PCR pueden detectarse en tiempo real. En la actualidad "tiempo real" se refiere a la detección de amplicones después de cada ciclo de PCR. Los formatos de detección con sonda implican la detección de fluoróforos. Los resultados son semicuantitativos y pueden obtenerse en un tiempo considerablemente menor que el necesario para realizar un análisis de PCR convencional.

MANIPULACIÓN DEL DNA CLONADO

Las técnicas de ingeniería genética permiten la separación y expresión completamente independiente de genes relacionados con los patógenos. Las vacunas preparadas con genes creados por ingeniería genética permiten medidas de seguridad que no era posible lograr con anterioridad. Por ejemplo, puede prepararse una vacuna contra una proteína de la cubierta viral que fue producida en ausencia de cualquier gen relacionado con las funciones de replicación viral; la inoculación con tales vacunas no implica el riesgo de introducir un virus funcional. Las dificultades potenciales en el desarrollo de tales vacunas radica en la facilidad con la cual las mutaciones virales pueden producir variantes genéticas que no son reconocidas por el sistema inmunitario de defensa de un individuo vacunado. Por último, las vacunas actuales (y en el futuro) contienen una amplia gama de proteínas que anticipan la respuesta genética del patógeno.

Cepas recombinantes en el medio ambiente

Los avances científicos importantes han desencadenado en ocasiones reacciones públicas adversas, de forma que es prudente considerar las consecuencias potenciales de la ingeniería genética. Un tema de preocupación más inmediata es conocer si los patógenos han sufrido relativamente pocas modificaciones genéticas. Éstas deben ser investigadas en laboratorios diseñados especialmente para controlar a los microorganismos. La necesidad de contención disminuye después que los genes para las funciones específicas, como cubiertas proteínicas, son separados de los genes relacionados con la replicación o toxicidad de un patógeno. Sobre todo, deben observarse las precauciones estándar relacionadas con laboratorios de microbiología, principalmente porque fomentan hábitos que son de utilidad si un patógeno potencial penetra al laboratorio.

Excepciones interesantes a esta regla general son los microorganismos creados por ingeniería genética que pueden proporcionar beneficios sociales si se introducen al medio ambiente. Muchos microorganismos se derivan de bacterias no patógenas que se presentan naturalmente con frecuencia de hasta 10^5/g de tierra. La evidencia disponible sugiere que la depredación y competencia eliminan con rapidez a las cepas de bacterias creadas por ingeniería genética después que se introducen al medio ambiente. El reto primario sería mantener los beneficios biológicos en el medio ambiente de los microorganismos modificados por ingeniería genética, más que eliminarlos. Sin embargo, esto no está exento de consecuencias sociales. Entre los ejemplos de microorganismos modificados por ingeniería genética se encuentran la cepas de *Pseudomonas* que producen una proteína que favorece la formación de cristales de hielo. La utilidad de estos organismos silvestres es apreciada por los que practican el deporte en esquí, quienes de manera deliberada introducen las bacterias en el ambiente sin hacer surgir preocupaciones del público en general. Un efecto secundario desafortunado de la introducción de estos microorganismos es que los cristales de hielo favorecen el daño de cultivos, por ejemplo de la lechuga, durante la temporada en la cual es probable que se presenten heladas leves. Las bacterias mutantes que no forman cristales de hielo se diseñaron por microbiólogos quienes esperan que el microorganismo mutante pueda proteger los cultivos de lechuga al ocupar temporalmente el nicho que normalmente no es habitado por cepas formadoras de hielo; sin embargo, los intentos para utilizar microorganismos mutantes en estudios de campo se acompañaron de protestas sustanciales y los estudios se realizaron sólo después de procesos judiciales prolongados y costosos. Los precedentes legales que han surgido de esta y otras aplicaciones relacionadas establecerán guías para el uso progresivo y beneficioso de las técnicas de ingeniería genética y facilitará la toma de decisiones en situaciones en las cuales se justifica la toma de medidas de precaución extremas.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿Cuál es el mecanismo por el que pueden surgir mutaciones en las bacterias?
   (A) Sustitución de bases
   (B) Deleciones
   (C) Inserciones
   (D) Reordenamiento
   (E) Todas las anteriores
2. La forma de intercambio genético en el cual el DNA donador se introduce en el receptor por medio de un virus bacteriano es
   (A) Transformación
   (B) Conjugación
   (C) Transfección
   (D) Transducción
   (E) Transferencia horizontal
3. La forma de intercambio genético en el cual la bacteria es más susceptible a la actividad de la desoxirribonucleasa durante el proceso de captación de DNA es
   (A) Transformación
   (B) Conjugación
   (C) Transfección
   (D) Transducción
   (E) Todas las anteriores
4. La replicación de cuál de los siguientes requiere la integración física con el replicón bacteriano
   (A) Bacteriófago con DNA monocatenario
   (B) Bacteriófago con DNA bicatenario
   (C) Bacteriófago con RNA monocatenario
   (D) Plásmido
   (E) Transposón
5. La transformación de un par de bacterias durante el proceso de conjugación en la *Escherichia coli* requiere
   (A) Lisis del donador
   (B) Una pilosidad sexual
   (C) Transferencia de DNA bicatenario
   (D) Una endonucleasa de restricción
   (E) Integración de un transposón

Respuestas

1. E 3. A 5. B
2. D 4. E

BIBLIOGRAFÍA

Alberts B et al: *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed. Garland, 2002.

Ausubel FM et al: *Current Protocols in Molecular Biology*. Wiley, 1987.

Avery O., Mcleod C, McCarty M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. J Exp Med 1944;79(2):137. [PMID: 19871359]

Bushman F: *Lateral DNA Transfer. Mechanisms and Consequences*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2002.

Charlebois RL (editor): *Organization of the Prokaryotic Genome*. American Society for Microbiology, 1999.

Condon C: RNA processing and degradation in *Bacillus subtilis*. Microbiol Mol Biol Rev 2003;67:157. [PMID: 12794188]

Drlica K, Riley M (editors): *The Bacterial Chromosome*. American Society for Microbiology, 1990.

Fraser CM, Read TD, Nelson KE (editors): *Microbial Genomes*. Humana Press, 2004.

Grohmann E, Muuth G, Espinosa M: Conjugative plasmid transfer in gram-positive bacteria. Microbiol Mol Biol Rev 2003;67:277. [PMID: 12794193]

Hatfull GF: Bacteriophage genomics. Curr Opin Microbiol. 2008;5:447.

Koonin EV, Makarova KS, Aravind L: Horizontal gene transfer in prokaryotes: Quantifi cation and classification. Annu Rev Microbiol 2001;55:709. [PMID: 11544372]

Kornberg A, Baker T: DNA *Replication*, 2nd ed. Freeman, 1992.

Lengler JW, Drews G, Schlegel HG (editors): *Biology of the Prokaryotes*. Blackwell Science, 1999.

Liebert CA, Hall RM, Summers AO: Transposon Tn*21*, flagship of the floating genome. Microbiol Mol Biol Rev 1999;63:507. [PMID: 10477306]

Murray NE: Type I restriction systems: Sophisticated molecular machines (a legacy of Bertani and Weigle). Microbiol Mol Biol Rev 2000;64:412. [PMID: 10839821]

Ptashne M: A *Genetic Switch: Phage Lambda and Higher Organisms*, 2nd ed. Blackwell, 1992.

Rawlings DE, Tietze E: Comparative biology of IncQ and IncQlike plasmids. Microbiol Mol Biol Rev 2001;65:481. [PMID: 11729261]

Reischl U, Witter C, Cockerill F (editors): *Rapid Cycle Real-Time PCR—Methods and Applications*. Springer, 2001.

Rhodius V et al: Impact of genomic technologies on studies of bacterial gene expression. Annu Rev Microbiol 2002;56:599. [PMID: 12142487]

Riley MA, Wertz JE: Bacteriocins: Evolution, ecology, and application. Annu Rev Microbiol 2002;56:117. [PMID: 12142491]

Sambrook J, Russell NO: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, 2001.

Singleton P, Sainsbury D: A *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology*, 3rd ed. Wiley, 2002.

Snyder L, Champness W: *Molecular Genetics of Bacteria*. ASM Press, 1997.

Trun N, Trempy J: *Fundamental Bacterial Genetics*. Blackwell Science Ltd, 2004.

van Belkum A et al: Short-sequence DNA repeats in prokaryotic genomes. Microbiol Mol Biol Rev 1998;62:275.

Zimmer C, Störl K, Störl J: Microbial DNA topoisomerases and their inhibition by antibiotics. J Basic Microbiol 1990;30:209-224.



SECCIÓN II INMUNOLOGÍA

CAPÍTULO 8

Inmunología

Roderick Nairn, PhD*

El estudio de la inmunología abarca un campo amplio que incluye tanto la investigación básica como las aplicaciones clínicas, revisa las reacciones de defensa del hospedador a entidades extrañas (no propias) conocidas como antígenos, moléculas de reconocimiento de antígenos y funciones de defensa celular del hospedador, en especial aquellas relacionadas con la inmunidad para la enfermedad, hipersensibilidad (lo que incluye reacciones alérgicas), autoinmunidad, inmunodeficiencia y trasplante. En este capítulo se revisan los principios básicos de inmunología, en particular aquellos relacionados con la respuesta a la infección. Para revisiones más detalladas el lector deberá revisar textos de inmunología.

INMUNIDAD Y RESPUESTA INMUNITARIA

Las respuestas inmunitarias pueden ser innata (no adaptativa) o adaptativa (adquirida) (fig. 8-1).

Inmunidad innata

La inmunidad innata es la resistencia preexistente y que no se adquirió a través del contacto con una entidad no propia (extraña), a lo que se conoce como **antígeno**. Es inespecífica e incluye barreras a los agentes infecciosos, por ejemplo, piel y mucosas, células fagocíticas, mediadores inflamatorios y componentes del complemento.

Inmunidad adaptativa

La inmunidad adaptativa que ocurre después de la exposición a un antígeno (p. ej., un agente infeccioso) es específica y está mediada por anticuerpos o por linfocitos. Puede ser activa o pasiva.

A. Inmunidad pasiva

La inmunidad pasiva se transmite por medio de anticuerpos por linfocitos preformados en otro hospedador. La administración pasiva de anticuerpos (antisuero) contra ciertos virus (p. ej., hepatitis B) puede ser útil durante el periodo de incubación para limitar la multiplicación viral, por ejemplo, después de una lesión por punción con aguja a alguien que no ha recibido la vacuna. La principal ventaja de la inmunización pasiva con anticuerpos preformados es la disponibilidad rápida de grandes cantidades de anticuerpo; la desventaja incluye la corta duración de los anticuerpos y posibles reacciones de hipersensibilidad si se administran anticuerpos (inmunoglobulinas) de otra especie.

B. Inmunidad activa

La inmunidad activa se induce después del contacto con antígenos extraños (p. ej., microorganismos o sus productos). Este contacto puede consistir en la infección clínica o subclínica, inmunización con agentes infecciosos vivos o desactivados o con sus antígenos, la exposición a productos microbianos (p. ej., toxinas, toxoides) o trasplante de células extrañas. En todos estos casos el hospedador produce anticuerpos de manera activa y los linfocitos adquieren la capacidad de responder a los antígenos. Las ventajas de la inmunidad activa incluyen protección a largo plazo (con base en la memoria por contactos previos con el antígeno y con la capacidad de responder más rápido y en mayor intensidad en los contactos subsiguientes con el mismo antígeno); las desventajas incluyen el inicio lento de la protección y la necesidad de contacto prolongado o repetido con el antígeno.

* Rector de los Academic & Student Affairs, University of Colorado, Denver, Colorado.

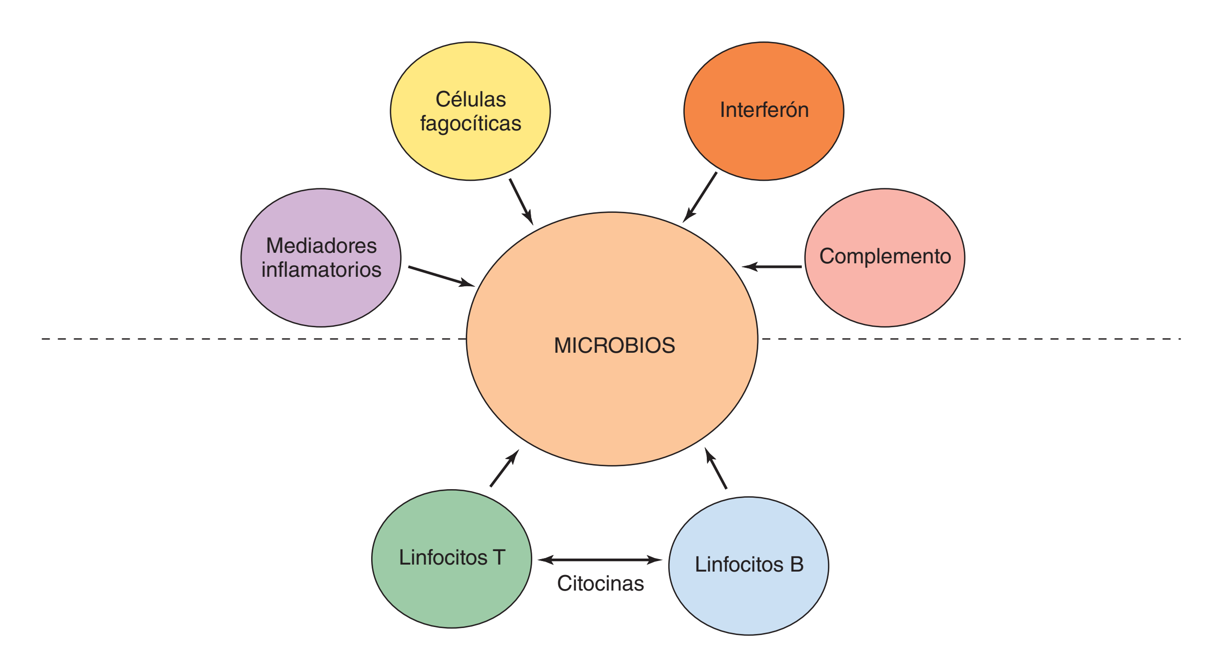


FIGURA 8-1. **Arriba:** El sistema inmunitario innato se caracteriza por barreras fisiológicas para la entrada de microorganismos patógenos con respuestas defensivas muy rápidas del hospedador. **Abajo:** El sistema inmunitario adaptativo consiste en células que muestran reconocimiento de moléculas de antígeno y tienen la capacidad de memoria a largo plazo.

GLOSARIO[1]

Alelos: Variantes de un locus genético único.

Anafilotoxinas: Fragmentos de proteínas del complemento que se liberan durante la activación. Ocasionan incremento en la permeabilidad vascular y atracción de leucocitos.

Anticuerpo (Ab): Proteína producida como resultado de la interacción con un antígeno. La proteína tiene la capacidad de combinarse con el antígeno que estimuló su producción.

Anticuerpos monoclonales: Cada linfocito B produce anticuerpos específicos para un solo antígeno. Sin embargo, los linfocitos B normales no crecen indefinidamente. Si un linfocito B se fusiona con una célula de mieloma por medio de una hibridación celular somática y se fusiona con células que secretan anticuerpos con la especificidad deseada, se obtiene una línea de células inmortales, productoras de anticuerpos, conocidas como híbrido, y dichas células producen anticuerpos monoclonales.

Antígeno (Ag): Sustancia que puede reaccionar con un anticuerpo. No todos los antígenos pueden inducir producción de anticuerpos; aquellos que la producen se denominan inmunógenos.

Célula plasmática: Linfocito B con diferenciación terminal que secreta anticuerpos.

Célula polimorfonuclear (PMN): También conocida como neutrófilo o granulocito, se caracteriza por un núcleo multilobular. Los PMN migran de la circulación al sitio de la inflamación por quimiotaxis y fagocitan bacterias y otras partículas.

Células citolíticas naturales (NK): Células linfoides grandes, granulosas, sin receptores conocidos específicos para antígeno. Son capaces de reconocer y destruir ciertas células infectadas por virus y también activar la respuesta innata.

Citólisis: Destrucción de bacterias o células como células tumorales o eritrocitos mediante la inserción de un complejo de ataque a la membrana derivados de la activación del complemento.

Clase de inmunoglobulina: Una subdivisión de moléculas de inmunoglobulina con base en diferencias estructurales (secuencia de aminoácidos). En seres humanos hay cinco clases de inmunoglobulina: IgG, IgM, IgA, IgE e IgD.

Complejo de ataque a la membrana: Producto terminal de la activación de la cascada del complemento, que contiene C5, C6, C7, C8 (y C9). El complejo de ataque a la membrana crea orificios en las membranas de bacterias gramnegativas, destruyéndolas, en tanto que en células como eritrocitos ocasiona su lisis.

Complejo de histocompatibilidad mayor (MHC): Un grupo de genes ubicados en estrecha cercanía, por ejemplo, en el cromosoma humano 6, que codifica antígenos de histocompatibilidad (moléculas MHC).

Complemento: Un grupo de proteínas plasmáticas que son los mediadores principales de las reacciones de antígeno-anticuerpo.

Endotoxinas: Toxinas bacterianas liberadas por células lesionadas.

[1] Modificado y reproducido con autorización de Stites DP, Stobo JD, Wells JV (editors): *Basic & Clinical Immunology,* 6th ed. Originally published by Appleton & Lange. Copyright © 1987 by the McGraw-Hill Companies, Inc.

GLOSARIO (continuación)

Epitopo: Sitio de reconocimiento de un antígeno por un anticuerpo. También se le conoce como determinante antigénico.

Hapteno: Una molécula que no es inmunógena por sí misma, pero que puede reaccionar con un anticuerpo específico después de unirse a una molécula transportadora apropiada.

Histocompatible: Que comparte antígenos del complejo de histocompatibilidad mayor (en trasplantes).

Inflamación: Acumulación de líquido y células después de lesión o infección.

Inmunidad celular (mediada por células): Inmunidad en la cual predomina la participación de linfocitos y macrófagos. La inmunidad celular es un término que por lo común se aplica a las reacciones de hipersensibilidad tipo IV (véase adelante).

Inmunidad humoral: Perteneciente a la respuesta inmunitaria en líquidos corporales; se utiliza el término para denotar la inmunidad mediada por anticuerpos y complemento.

Inmunidad:

(1) Inmunidad innata: Defensa inespecífica del hospedador que no se adquiere a través de contacto con un antígeno. Incluye barreras cutánea y mucosa contra agentes infecciosos y diversos factores inmunológicos inespecíficos.

(2) Inmunidad adaptativa: Protección adquirida por introducción deliberada de un antígeno en un hospedador que presenta respuesta. La inmunidad activa es específica y es mediada por anticuerpos o células linfoides (o ambas).

Inmunoglobulina: Una glucoproteína compuesta de cadenas H y L, que funciona como anticuerpo. Todos los anticuerpos son inmunoglobulinas, pero no todas las inmunoglobulinas poseen la función de anticuerpos.

Interferón: Un grupo de proteínas heterogéneas de bajo peso molecular elaboradas por células del hospedador infectadas que protegen a células no infectadas de la infección viral. Los interferones son citocinas que también poseen funciones de inmunomodulación.

Leucocito: Término generalmente utilizado para los glóbulos blancos.

Linfocito: Célula mononuclear de 7 a 12 µm de diámetro que contiene un núcleo con cromatina densa y un borde de citoplasma. Los linfocitos incluyen a las células T y B, que tienen una participación primaria en la respuesta inmunitaria.

Linfocito B (también célula B): En el sentido estricto, una célula derivada de la bolsa en aves y, por analogía, una célula derivada de su equivalente de la bolsa (médula ósea) en especies animales diferentes a las aves. Los linfocitos B son precursores de las células plasmáticas, las cuales producen anticuerpos.

Linfocito T (también célula T): Célula derivada del timo que participa en diversas reacciones inmunitarias mediadas por células.

Linfocito T citotóxico: Célula T que puede destruir a otras células, por ejemplo, células infectadas con patógenos intracelulares.

Macrófago: Célula mononuclear fagocítica derivada de los monocitos de la médula ósea, que se encuentra en los tejidos y en sitios de inflamación. Los macrófagos desempeñan funciones accesorias en la inmunidad, en particular como células presentadoras de antígeno (APC).

Moléculas de adhesión celular (CAM): Por ejemplo, las integrinas y selectinas. Son moléculas que median la unión de células a otras células o a moléculas de matriz extracelular como fibronectina.

Monocito: Célula fagocítica circulante que se desarrolla en macrófagos hísticos.

Opsonina: Una sustancia capaz de incrementar la fagocitosis. Los anticuerpos y el complemento son las dos principales opsoninas.

Opsonización: Hecho de cubrir un antígeno o partícula (p. ej., agente infeccioso) con sustancias tales como anticuerpos, componentes del complemento, fibronectina u otras similares, de manera que se facilita la captación de la partícula extraña por una célula fagocítica.

Quimiocinas: Proteínas de bajo peso molecular que estimulan el desplazamiento de leucocitos.

Quimiotaxis: Proceso por el cual las células fagocíticas son atraídas a la cercanía de patógenos invasores.

Reacciones de hipersensibilidad:

(1) Hipersensibilidad mediada por anticuerpos:

Tipo I. Inmediata: Los anticuerpos IgE se inducen por la presencia de alergenos y se unen a través de su receptor Fc a las células cebadas y eosinófilos. Después de encontrarse una vez más con el antígeno, el IgE fijado crea enlaces cruzados, lo que induce desgranulación y liberación de mediadores, en especial de histamina.

Tipo II. Antígenos en la superficie celular que se combinan con anticuerpos, lo que conduce a lisis mediada por complemento (p. ej., reacciones transfusionales o a Rh) u otros daños por citotoxicidad a las membranas (p. ej., anemia hemolítica autoinmunitaria).

Tipo III. Complejos inmunitarios: Se depositan complejos inmunitarios antígeno-anticuerpo en los tejidos, se activa el complemento y hay atracción de células polimorfonucleares al sitio, causando daño hístico.

(2) Hipersensibilidad mediada por células:

Tipo IV. Tardía: Los linfocitos T que han sido sensibilizados por un antígeno liberan citocinas hasta un segundo contacto con el mismo antígeno. Las citocinas inducen inflamación y activan macrófagos.

Respuesta inmunitaria: Desarrollo de resistencia (inmunidad) a sustancias extrañas (p. ej., agentes infecciosos). Pueden ser mediadas por anticuerpos (humoral) mediada por células (celular) o ambas.

Subclase de inmunoglobulina: Una subdivisión de las clases de inmunoglobulina con base en diferencias estructurales en las cadenas H. Para la IgG humana hay cuatro subclases: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4.

Timocito: Linfocito T en desarrollo que se encuentra en el timo.

Vacunación: Inducción de la inmunidad al inyectar un patógeno desactivado o atenuado.

MECANISMOS DE INMUNIDAD INNATA

Barreras fisiológicas en el portal de entrada

A. Piel

Pocos microorganismos son capaces de penetrar la piel intacta, pero muchos pueden entrar a través de las glándulas sebáceas y sudoríparas así como de los folículos pilosos y establecerse ahí. Las secreciones sebáceas y sudoríparas, por la presencia de un pH ácido y ciertas sustancias químicas (en especial ácidos grasos) poseen propiedades antimicrobianas que tienden a eliminar microorganismos patógenos. Las lisozimas son enzimas que disuelven algunas paredes celulares bacterianas que están presentes en la piel y pueden ayudar a proporcionar protección contra algunos microorganismos. Las lisozimas también se encuentran presentes en lágrimas y en las secreciones respiratorias y del cuello uterino.

La piel produce diversos agentes antimicrobianos, lo que incluye una proteína con propiedades antibacterianas conocidas como soriasina.

B. Mucosas

En el aparato respiratorio, una capa de moco cubre la superficie y es movilizada de manera constante en dirección cefálica por acción de las células ciliadas hacia los orificios naturales. Las bacterias tienden a adherirse a esta capa. Además, el moco y las lágrimas contienen lisozimas y otras sustancias con propiedades antimicrobianas. Para algunos microorganismos, la primera etapa en la infección es la unión a la superficie de las células epiteliales por medio de proteínas agresivas de la superficie bacteriana (p. ej., las pilosidades de los gonococos y *Escherichia coli*). Si tales células tienen anticuerpos IgA en su superficie (un mecanismo de defensa del hospedador) puede evitarse la fijación. El microorganismo puede superar esta resistencia del hospedador mediante el desdoblamiento de los anticuerpos por medio de una proteasa.

Cuando el microorganismo penetra el cuerpo a través de las mucosas tiende a ser captado por los fagocitos y es transportado hacia los vasos linfáticos regionales a través de los cuales es llevado a los ganglios linfáticos. Los fagocitos actúan como barrera para la diseminación adicional de grandes números de bacterias. El aparato mucociliar es auxiliado por los macrófagos pulmonares para eliminar las bacterias en el aparato respiratorio. Mecanismos especiales de protección en el aparato respiratorio incluyen las vibrisas en las narinas y el reflejo tusígeno, que evita la broncoaspiración.

En el tubo digestivo varios sistemas actúan para desactivar a las bacterias: la saliva contiene numerosas enzimas hidrolíticas; la acidez del estómago destruye muchas bacterias ingeridas (p. ej., *V. cholerae*) y en el intestino delgado se encuentran muchas enzimas proteolíticas y macrófagos activos.

Cabe recordar que la mayor parte de las mucosas del cuerpo portan una flora microbiana normal constante que se opone al establecimiento de microorganismos patógenos ("interferencia bacteriana") y que tiene importantes funciones fisiológicas. Por ejemplo, en la vagina de la mujer adulta se conserva un pH ácido por la presencia normal de lactobacilos, lo que inhibe el establecimiento de levaduras, microorganismos anaerobios y bacterias gramnegativas.

Mecanismos de inmunidad innata

El sistema de inmunidad innata utiliza **receptores de reconocimiento de patrones** (PRR, *pattern recognition receptors*) tanto solubles como unidos a la membrana, para "percibir" la presencia de microorganismos invasores. Tales receptores incluyen moléculas como los **receptores de tipo toll** (TLR, *toll-like receptors*) que reconocen moléculas muy conservadas de los patógenos, como los lipopolisacáridos que se encuentran en las bacterias gramnegativas. En etapas muy iniciales de la respuesta a la infección (en las primeras horas), ocurren respuestas inespecíficas pero importantes del hospedador entre las que se incluyen el englobamiento de microorganismos por macrófagos (fagocitosis) y la activación del complemento por la vía alternativa (fig. 8-9; se revisan más adelante en este capítulo). La siguiente línea de defensa incluye algunas respuestas que aún no son adaptativas (p. ej., liberación de citocinas por macrófagos) y la liberación de otros mediadores que desencadenan la **respuesta inflamatoria**. Esta última ocurre con rapidez y por lo general sirve para contener la diseminación del patógeno hasta que se inicien las respuestas adaptativas específicas. Sin embargo, algunos microorganismos han encontrado métodos para evadir las respuestas inespecíficas del hospedador; por ejemplo, las bacterias (neumococo) con cápsulas de polisacáridos pueden evadir la fagocitosis y algunos virus (como los poxvirus) producen homólogos de los receptores de citocinas que actúan como antagonistas competitivos de las citocinas. Tales mecanismos de evasión hacen más lenta la respuesta inmunitaria, lo que permite que el microorganismo se establezca en un nicho.

A. Células fagocíticas

Las células fagocíticas mononucleares están presentes en sangre, tejido linfoide, hígado, bazo, pulmón y otros tejidos que son eficientes para la captación y eliminación de material particulado de los vasos linfáticos y torrente sanguíneo. Incluyen células de revestimiento vascular y senos linfáticos (células de Kupffer en el hígado) y macrófagos.

Una función importante del bazo es filtrar microorganismos del torrente sanguíneo. Los pacientes que han sido sometidos a esplenectomía o en quienes el bazo no es funcional (p. ej., drepanocitosis) a menudo sufren septicemia bacteriana, en particular con neumococo y salmonela. La fagocitosis se incrementa en gran medida por la acción de las opsoninas. Cuando los macrófagos reconocen constituyentes microbianos, estimulan la liberación de citocinas que causa el reclutamiento de más células fagocíticas al sitio de la infección.

B. Fagocitosis

Durante la infección bacteriana, a menudo se incrementa el número de varias células fagocíticas circulantes. Las principales funciones de las células fagocíticas incluyen migración, quimiotaxis, ingestión y destrucción de microbios. Los microorganismos (y otras partículas) que entran a los linfáticos, pulmón o torrente sanguíneo son fagocitados por diversas células fagocíticas. Entre ellas se encuentran los leucocitos polimorfonucleares (granulocitos), monocitos fagocíticos (macrófagos) y macrófagos fijos del sistema reticuloendotelial (véase antes). Muchos microorganismos elaboran factores quimiotácticos que atraen las células fagocíticas. Los defectos en la quimiotaxis pueden explicar la hipersusceptibilidad a ciertas infecciones; los defectos pueden ser adquiridos o heredados. Puede ocurrir fagocitosis en ausencia de anticuerpos séricos en etapas tempranas de procesos infecciosos.

1. Factores que afectan la fagocitosis. La fagocitosis se lleva a cabo con mayor eficiencia por la presencia de anti-

cuerpos (opsoninas) que cubre las superficies de las bacterias y facilita su ingestión por los fagocitos. La opsonización puede ocurrir por tres mecanismos: 1) los anticuerpos solos pueden actuar como opsoninas; 2) los anticuerpos más el antígeno pueden activar el complemento por la vía clásica para producir la opsonización, y 3) pueden producirse opsoninas a través de C3 por la vía alternativa del complemento (fig. 8-9). Los macrófagos tienen receptores en sus membranas para las porciones Fc de los anticuerpos y para el componente C3 del complemento. Dichos receptores colaboran con la fagocitosis de partículas cubiertas por anticuerpos.

La ingestión de partículas extrañas (p. ej., microorganismos) tiene los efectos siguientes en los granulocitos fagocíticos: 1) se incrementa el consumo de oxígeno y hay aumento en la producción de anión superóxido (O_2^-) e incrementa la liberación de H_2O_2; 2) se incrementa la glucólisis a través del ciclo de monofosfato de hexosa, y 3) hay rotura de los lisosomas y sus enzimas hidrolíticas son vertidas en una vacuola fagocítica para formar una vacuola digestiva o "fagolisosoma". Desde el punto de vista morfológico, este proceso aparece como la "desgranulación" de los granulocitos. La inhibición de estos mecanismos es parte importante del proceso infeccioso, o patogenia, de la neumonía por *Legionella*. En el síndrome de Chédiak-Higashi, la mayor parte de los microorganismos son fagocitados, pero hay alteración de la destrucción intracelular, por un defecto en las proteínas citoplásmicas que causa función anormal de las membranas de los gránulos, lo que ocasiona disfunción lisosómica e infecciones recurrentes por bacterias piógenas.

2. Granulocitos (leucocitos polimorfonucleares o neutrófilos). Los granulocitos contienen gránulos compuestos de lisozimas, otras enzimas hidrolíticas, varias proteínas catiónicas, defensinas (componentes antimicrobianos), lactoferrina y óxidos de nitrógeno tóxico.

Los mecanismos de destrucción intracelular de los microorganismos en granulocitos fagocíticos incluyen mecanismos no oxidativos (p. ej., activación de enzimas hidrolíticas en contacto con microorganismos, acción de péptidos antimicrobianos) y mecanismos oxidativos. Entre estos últimos, se han implicado los siguientes:

a. El incremento de la actividad oxidativa ocasiona acumulación de H_2O_2. En presencia de cofactores susceptibles de oxidación (haluros como el cloruro), en presencia de un pH ácido y de la enzima mieloperoxidasa, el H_2O_2 se convierte a HOCl, que es un agente antimicrobiano eficaz.

b. En los granulocitos normales, el anión superóxido (O_2^-) se genera cuando ocurre la fagocitosis de partículas. El radical superóxido puede ser letal para muchos microorganismos. Los niños que sufren enfermedades granulomatosas crónicas tienen granulocitos que ingieren microbios normalmente, pero presentan una deficiencia genética del sistema de oxidasa de NADPH que es necesario para la producción de anión superóxido, que es muy importante para la actividad antimicrobiana de los fagocitos. Este defecto puede ser causante de la alteración de la capacidad de destrucción de microorganismos por granulocitos relacionados con la enfermedad y explicar la susceptibilidad de estos pacientes a las infecciones, en especial las producidas por estafilococos.

Cuando hay supresión de la médula ósea en pacientes como consecuencia de procesos patológicos, fármacos o radiaciones, se reduce el número de granulocitos funcionales. Si disminuye la cantidad de granulocitos por debajo de las cifras protectoras, el paciente se torna muy susceptible a infecciones oportunistas por bacterias.

3. Macrófagos (monocitos fagocíticos circulantes). Los macrófagos se derivan de las células progenitoras de monocitos en la médula ósea, tienen una vida más larga que la de los granulocitos circulantes y continúan su actividad con cifras bajas de pH.

Los macrófagos en sangre pueden activarse por medio de varios estimulantes o "activadores", lo que incluye microbios y sus productos, complejos antígeno-anticuerpo, inflamación, linfocitos T activados, citocinas (véase adelante) y lesiones. Los macrófagos activados tienen incremento en el número de lisosomas y producen y liberan interleucina-1 (IL-1) que tiene una amplia gama de actividad en la inflamación. La IL-1 participa en la producción de fiebre y en la activación de células linfoides, lo que origina la liberación de otras citocinas.

La destrucción intracelular en los macrófagos probablemente incluya mecanismos similares a los descritos antes para los granulocitos.

C. Activación de la vía alternativa del complemento

El sistema del complemento es un grupo de proteínas que incrementa la función de las respuestas adaptativa e innata a la infección y se revisan más adelante en este capítulo. Una vía de activación del complemento, la vía alternativa, es muy importante como primera línea de defensa contra las infecciones por microorganismos. Como se muestra en la figura 8-9, la vía alternativa del complemento puede activarse por la presencia de superficies microbianas y ocurre en ausencia de anticuerpos. Hay varias propiedades antimicrobianas de las proteínas del complemento que contribuyen a la defensa del hospedador, lo que incluye la opsonización, lisis de bacterias y amplificación de las respuestas inflamatorias a través de las anafilotoxinas C5a y C3a.

Algunos microorganismos han desarrollado mecanismos para interferir con el sistema del complemento en forma tal que evaden la respuesta inmunitaria. Por ejemplo, el virus de vaccinia codifica una proteína soluble que funciona como proteína de control del complemento al bloquear las principales vías de activación del complemento mediante su unión a C3b y C4b.

D. Respuesta inflamatoria

Cualquier lesión a los tejidos, como aquellas que se continúan con el establecimiento y multiplicación de microorganismos, desencadena una respuesta inflamatoria. La respuesta inmunitaria innata de los macrófagos incluye la liberación de **citocinas**, entre las que se encuentran IL-1 y factor de necrosis tumoral α (TNF-α). Los otros mediadores liberados por los macrófagos activados incluyen prostaglandinas y leucotrienos. Tales mediadores inflamatorios inician desencadenando cambios en los vasos sanguíneos locales. Esto inicia con la dilatación de arteriolas locales y capilares, a través de las cuales escapa plasma. Se acumula líquido de edema en el área de la lesión y la fibrina forma una red que incluye los conductos linfáticos, lo que limita la diseminación de microorganismos. Un segundo efecto del mediador es la inducción de cambios en la expresión de

varias moléculas de adhesión en las células endoteliales y en los leucocitos. Las moléculas de adhesión como las selectinas e integrinas ocasionan que los leucocitos se unan a las células endoteliales de los vasos sanguíneos y por tanto que fomenten el movimiento a través de la pared vascular. Así, los leucocitos polimorfonucleares en los capilares se fijan a las paredes y más tarde emigran de los capilares (extravasación) hacia el irritante. La migración (quimiotaxis) es estimulada por sustancias en el exudado inflamatorio, lo que incluye algunos polipéptidos pequeños denominados **quimiocinas**. Las quimiocinas son sintetizadas por los macrófagos y por células endoteliales. Un ejemplo de quimiocinas es IL-8 (véase la revisión más adelante y el cuadro 8-3). Dichos compuestos funcionan principalmente al reclutar monocitos y neutrófilos de la sangre hacia los sitios de infección. Los fagocitos engloban los microorganismos e inician la digestión intracelular. Muy pronto el pH de la región inflamada se torna más ácido y las proteasas celulares inducen lisis de los leucocitos. Los macrófagos mononucleares grandes arriban al sitio y a su vez engloban restos celulares de leucocitos y microorganismos que inician el camino para la resolución del proceso inflamatorio local.

Las citocinas y los derivados del ácido araquidónico, lo que incluye prostaglandinas y leucotrienos, son mediadores de la respuesta inflamatoria. Los fármacos que inhiben la síntesis de prostaglandinas (mediante el bloqueo de la enzima ciclooxigenasa) actúan como fármacos antiinflamatorios.

E. Fiebre

La fiebre es la manifestación sistémica más común de la respuesta inflamatoria y es un síntoma cardinal de enfermedades infecciosas.

El regulador final de la temperatura corporal es el centro termorregulador que se encuentra en el hipotálamo. Entre las sustancias capaces de inducir fiebre (piógenos) se encuentran endotoxinas de bacterias gramnegativas y citocinas liberadas por las células linfoides, como IL-1.

Varios activadores pueden actuar sobre los fagocitos mononucleares y otras células e inducen la liberación de IL-1. Entre sus activadores se encuentran microbios y sus productos, toxinas entre las que se encuentran las endotoxinas, complejos antígeno-anticuerpo, procesos inflamatorios y muchos otros. La IL-1 es llevada al centro termorregulador a través del torrente sanguíneo y en dicho centro se inicia la respuesta fisiológica que da origen a la fiebre (p. ej., incrementa la producción de calor, reducción en la pérdida de calor). Más adelante se mencionan otros efectos de IL-1.

Las **citocinas** son pequeñas proteínas solubles producidas por una célula e influyen sobre otras células. Estas moléculas tienen diversas propiedades; por ejemplo, IL-1 favorece la proliferación de linfocitos, además de inducir fiebre, en tanto que la interleucina-2, producida por los linfocitos T, causa la proliferación de los mismos y tiene numerosas funciones inmunomoduladoras. Estas moléculas se describen con detalle más adelante en este capítulo.

F. Interferones

Las infecciones virales inducen la expresión de proteínas antivirales conocidas como **interferones**. Tales proteínas, denominadas interferón-α (IFN-α) e interferón-β (IFN-β) se diferencian del interferón-γ (IFN-γ) producidas por los linfocitos T activados. Los interferones α y β ayudan en el control de la replicación viral al inhibir la síntesis de proteínas en la célula.

G. Linfocitos citolíticos naturales (NK)

Los linfocitos citolíticos naturales representan una población funcional distinta de los linfocitos. Participan en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC, *antibody-dependent cellular cytotoxicity*) y participan en fases tempranas de la infección con ciertos virus como herpesvirus y algunas bacterias intracelulares. Tienen el aspecto de linfocitos granulares grandes, relacionados morfológicamente con los linfocitos T. No expresan receptores específicos de antígeno. Tienen dos tipos de receptores de superficie: 1) receptores de linfocitos citolíticos similares a lectina que se unen a proteínas y no a carbohidratos, y 2) receptores parecidos a inmunoglobulinas de linfocitos citolíticos (KIR, *killer immunoglobulin-like receptors*) que reconocen moléculas HLA-B o HLA-C. Tales receptores de linfocitos citolíticos naturales tienen propiedades de activación e inhibición. Pueden destruir objetivos celulares que sufran transformación maligna y participen en la vigilancia inmunitaria contra el establecimiento de tumores. Pueden destruir ciertas células infectadas con virus con concentraciones alteradas de moléculas MHC de clase I. La actividad lítica de los linfocitos NK se incrementa con altas concentraciones de interferones α y β.

MECANISMOS DE DEFENSA ESPECÍFICA DEL HOSPEDADOR

Respuesta adaptativa

La respuesta adaptativa puede ser mediada por anticuerpos (humoral), por células (celular) o ambas. Un encuentro con un agente microbiano o viral por lo común desencadena una compleja variedad de respuestas. A continuación se muestra una revisión de éstas; los detalles se presentan más adelante en este capítulo.

Hasta la entrada de un patógeno potencial en el hospedador y después de su interacción con el sistema de defensa no adaptativo, que se acaba de describir, sus principales antígenos son captados por las células presentadoras de antígeno (APC, *antigen-presenting cells*), por ejemplo, macrófagos, células dendríticas, etc. Los antígenos extraños reaparecen en la superficie de las APC, formando complejos con proteínas codificadas por el complejo de histocompatibilidad mayor (MHC, *major histocompatibility complex*) y son presentadas a clonas de linfocitos T. Los complejos MHC-antígeno son reconocidos por receptores específicos en la superficie de linfocitos T y tales células producen diversas citocinas que inducen la proliferación de linfocitos. De manera simultánea se presentan dos tipos de respuesta inmunitaria: respuesta celular y respuesta humoral.

En la respuesta **mediada por anticuerpos (humoral)** los linfocitos T auxiliadores (CD4) reconocen los antígenos del patógeno que han formado complejos con las proteínas MHC de clase II en la superficie de célula presentadora de antígeno (macrófago o célula B) y produce citocinas que activan a las células B que expresan anticuerpos que se unen específicamente al antígeno. Las células B sufren proliferación clonal y se diferencian para formar células plasmáticas, que producen inmunoglobulinas específicas (anticuerpos). Las principales funciones de defensa del hospedador por anticuerpos incluyen la neutralización de

toxinas y virus, y la opsonizacón (recubrimiento) del patógeno, lo que ayuda en la captación por las células fagocíticas. Los mecanismos de defensa mediados por anticuerpos son importantes contra patógenos que producen toxinas (p. ej., *Clostridium tetani*) o tienen cápsulas de polisacáridos que interfieren con la fagocitosis (p. ej., el neumococo). Esto aplica principalmente a patógenos extracelulares y sus toxinas.

En la **inmunidad celular**, los complejos antígeno-MHC de clase II son reconocidos por los CD4, en tanto que los complejos de antígeno-MHC clase I son reconocidos por los linfocitos T citotóxicos (CD8). Cada clase de linfocitos T produce citocinas que se activan y se expanden por medio de proliferación clonal.

La actividad de los linfocitos T **auxiliadores**, además de estimular la producción de anticuerpos por las células B, favorece el desarrollo de la hipersensibilidad tardía y por tanto también sirve en la defensa contra agentes intracelulares, lo que incluye bacterias intracelulares (p. ej., micobacterias), hongos, protozoarios y virus. La actividad **citotóxica** de los linfocitos T se dirige principalmente a la destrucción de las células en injertos de tejidos, células tumorales o células infectadas por algunos virus. Así, los linfocitos T se utilizan principalmente para activar las respuestas de células B y enfrentar a los patógenos intracelulares.

En la figura 8-1 se resumen los mecanismos de defensa innatos y adaptativos del hospedador utilizados para combatir a los microorganismos. El resultado neto de la inmunidad eficaz es la resistencia del hospedador a los microbios y a otros patógenos y células extrañas. Por el contrario, la alteración de la respuesta inmunitaria se manifiesta como susceptibilidad excesiva a tales patógenos o tumores. Más adelante se muestran ejemplos específicos.

Antígenos

Las características de los antígenos que determinan en gran medida la inmunogenicidad en la respuesta inmunitaria son las siguientes.

A. Calidad de extraño (a diferencia de lo "propio")

En general, las moléculas que se reconocen como "propias" no son inmunógenas; para la inmunogenicidad, las moléculas deben reconocerse como "no propias".

B. Tamaño molecular

Los inmunógenos más potentes por lo común son proteínas grandes. En términos generales, las moléculas con peso molecular inferior a 10 000 tienen baja potencia inmunógena en tanto que las muy pequeñas (p. ej., aminoácidos) no son inmunógenas. Ciertas moléculas pequeñas (p. ej., haptenos) se tornan inmunógenas sólo cuando se unen a una proteína transportadora.

C. Complejidad química y estructura

Se requiere de cierta complejidad química, por ejemplo, los homopolímeros de aminoácidos son menos inmunógenos que los heteropolímeros que contienen dos o tres diferentes aminoácidos.

D. Constitución genética del hospedador

Dos cepas de la misma especie de animales pueden responder diferente al mismo antígeno por una composición diferente de los genes que participan en la respuesta inmunitaria, por ejemplo, alelos diferentes para MHC.

E. Dosificación, vía de administración y momento oportuno para la administración de antígenos

El grado de respuesta inmunitaria depende de la cantidad de antígeno recibido y por tanto la respuesta inmunitaria puede optimizarse al definir cuidadosamente la dosis (lo que incluye el número de dosis), vía de administración y momento de la misma (lo que incluye los intervalos entre las dosis).

Es posible incrementar la inmunogenicidad de una sustancia al mezclarla con un **adyuvante**. Los adyuvantes son sustancias que estimulan la respuesta inmunitaria, por ejemplo al facilitar la captación del antígeno por parte de las células presentadoras.

Bases celulares de la respuesta inmunitaria

Durante el desarrollo embrionario, los precursores de las células sanguíneas (células progenitoras hematopoyéticas) se encuentran en el hígado fetal y en otros tejidos; en la vida posnatal, las células progenitoras se encuentran en la médula ósea. Pueden sufrir diferenciación por diversos métodos. Las células progenitoras pueden diferenciarse en células de la serie mieloide o linfoide. Las células progenitoras linfoides evolucionan hacia una de las dos poblaciones predominantes de linfocitos, T y B. Los linfocitos citolíticos naturales (NK) también se derivan de progenitores linfoides.

A. Células B

Las células B son linfocitos que se desarrollan en la médula ósea en mamíferos. En aves se desarrollan en la bolsa de Fabricio, un apéndice intestinal. Éstas reordenan sus genes de inmunoglobulinas y expresan receptores singulares para antígenos sobre su superficie celular. En este punto, migran a órganos linfoides secundarios (p. ej., bazo) y pueden activarse al encontrarse con el antígeno para convertirse en una célula plasmática productora de anticuerpos.

B. Células T

Las células T son linfocitos que requieren maduración en el timo y forman varias clases con funciones específicas. Son el origen de la inmunidad celular, que se revisa más adelante.

Algunas células linfocíticas (p. ej., linfocitos citolíticos naturales; véase antes) carecen de las características de las células B o T, pero tienen funciones inmunitarias de importancia. En la figura 8-2 se presenta una revisión de los linfocitos con actividad inmunitaria y sus interacciones.

MOLÉCULAS DE RECONOCIMIENTO DE ANTÍGENOS

A fin de que el sistema inmunitario responda a lo no propio, es decir, a los antígenos extraños, tuvo que desarrollarse un sistema de reconocimiento que debe ser capaz de distinguir con precisión lo propio de lo extraño. La siguiente sección de este capítulo revisa las moléculas utilizadas para la identificación de antígenos extraños. En primer lugar se revisa la estructura y función de los anticuerpos, productos de reconocimiento soluble de los linfocitos B. Más tarde se revisarán los receptores de membrana para antígeno, antígenos para los receptores de linfocitos B, antígenos para receptores de linfocitos T y los productos del **complejo de histocompatibilidad mayor** (MHC, *major histocompatibility complex*).

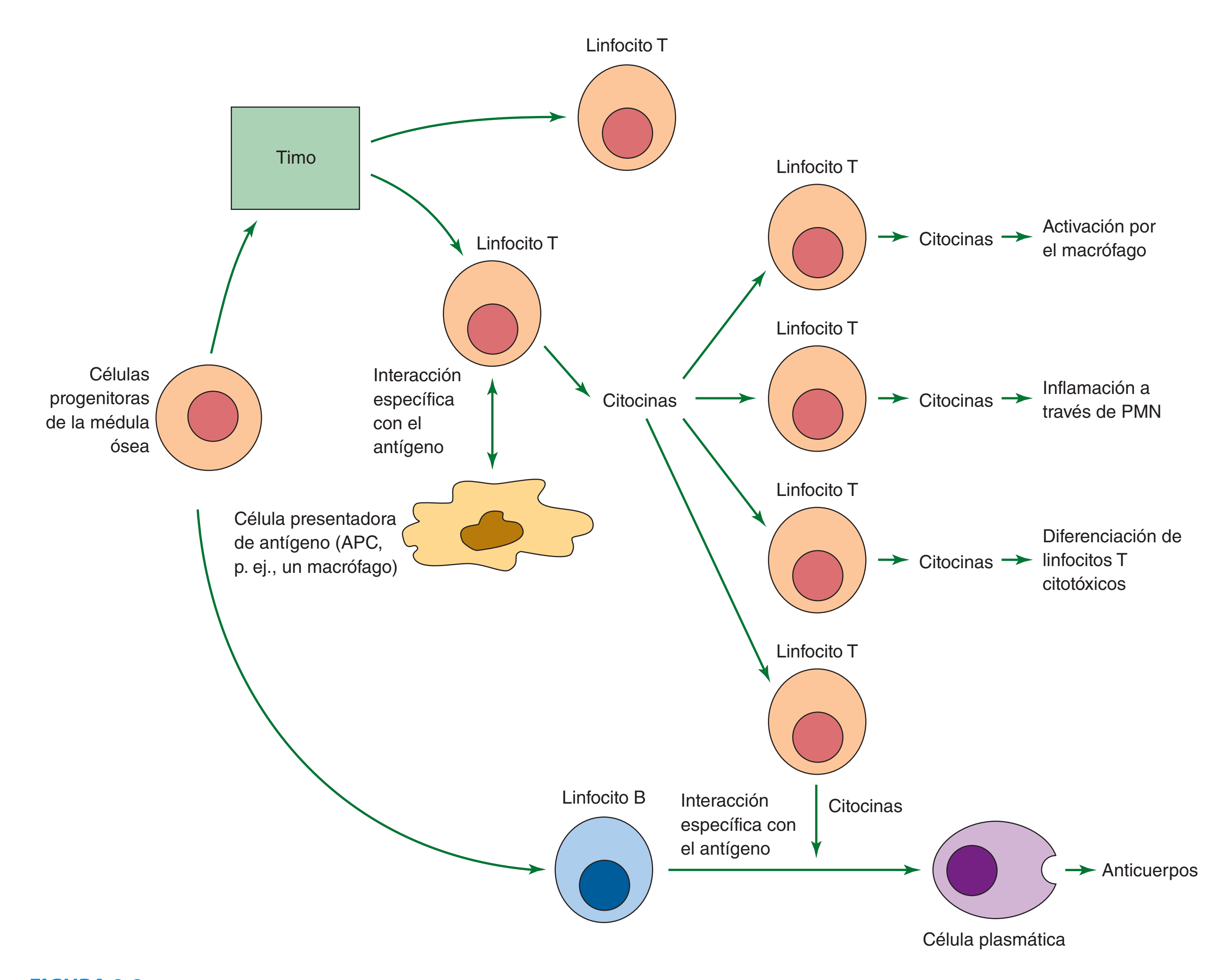


FIGURA 8-2. Esquema de las interacciones celulares en la respuesta inmunitaria.

ANTICUERPOS

Los anticuerpos (**inmunoglobulinas**) son producidos por los linfocitos B. Cada individuo tiene una gran reserva de diferentes linfocitos B (casi 10^{11}) con una vida de días o semanas y se encuentran en la médula ósea, ganglios linfáticos y tejido linfoide relacionado con el intestino (p. ej., amígdalas, apéndice cecal).

Los linfocitos B presentan moléculas de inmunoglobulina en su superficie (10^5/célula). Tales inmunoglobulinas sirven como receptores para antígenos específicos, de forma que cada linfocito B pueda responder sólo a un antígeno o a un grupo de antígenos con relación estrecha. Todas las células B inmaduras portan inmunoglobulinas M en su superficie, y la mayor parte portan IgD; también tienen receptores de superficie para la porción Fc de las inmunoglobulinas y para varios componentes del complemento.

Un antígeno interactúa con un linfocito B que muestra "el mejor ajuste" en virtud de sus receptores de superficie para inmunoglobulinas. El antígeno se une a este receptor y el linfocito B es estimulado para dividirse y formar clonas (**selección clonal**). Tales linfocitos B selectos pronto se transforman en células plasmáticas y secretan anticuerpos. Cada persona puede producir casi 10^{11} diferentes moléculas de anticuerpos, de forma que hay un sitio fijador de antígenos en los linfocitos B para casi cualquier determinante antigénico.

El paso inicial en la formación de anticuerpos es la fagocitosis de antígenos, por lo común por células presentadoras de antígeno (principalmente macrófagos o linfocitos B) que procesan y presentan antígenos a los linfocitos T. Los linfocitos T activados interactúan con los linfocitos B. Las células B que portan inmunoglobulinas de superficie con el mejor ajuste para un antígeno son estimuladas para proliferar y diferenciarse en células plasmáticas (fig. 8-2), las cuales formarán anticuerpos específicos o se diferenciarán para dar origen a células de memoria de larga duración. Las células plasmáticas sintetizan una inmunoglobulina de la misma especificidad que es transportada por los linfocitos B precursores.

Estructura y función de los anticuerpos

Los anticuerpos son inmunoglobulinas que reaccionan de manera específica con el antígeno que estimuló su producción. Constituyen casi 20% de las proteínas plasmáticas.

Los anticuerpos que se originan en un animal en respuesta a un solo complejo antigénico son heterogéneos porque se forman por diferentes clonas de células, cada una de las cuales expresa un anticuerpo capaz de reaccionar con los diferentes determinantes antigénicos en un complejo antigénico. Se dice que estos anticuerpos son de tipo **policlonal**. Los anticuerpos que se originan de una sola clona de células, por ejemplo en el caso del tumor de células plasmáticas (mieloma) son homogéneos y se denominan **monoclonales**. Los anticuerpos monoclonales pueden producirse por la fusión de células de mieloma con linfocitos productores de anticuerpos. Tales **hibridomas** producen prácticamente cantidades ilimitadas de anticuerpos monoclonales *in vitro*. Del estudio de los anticuerpos monoclonales se ha derivado información importante con respecto a la estructura y función de los anticuerpos.

Todas las moléculas de inmunoglobulina están constituidas por cadenas polipeptídicas ligeras y pesadas. Los términos ligero y pesado se refieren al peso molecular; las cadenas ligeras tienen un peso molecular de casi 25 000, en tanto que las cadenas pesadas tienen un peso molecular cercano a 50 000. Las **cadenas ligeras (L)** son de uno de dos tipos, κ (kappa) o λ (lambda); la clasificación se hace con base en las diferencias de aminoácidos en sus regiones constantes (fig. 8-3). Ambos tipos se presentan en todos los tipos de inmunoglobulina (IgG, IgM, IgA, IgE e IgD), pero cualquier molécula de inmunoglobulina contiene sólo un tipo de cadena, L. La porción amino terminal de la cadena L contiene partes del sitio de fijación a antígeno. Las **cadenas pesadas (H)** son distintas para cada una de las clases de inmunoglobulinas y se designan como γ (gamma), μ (mu), α (alpha), δ (delta), y ε (épsilon) (cuadro 8-1). La porción amino terminal de cada cadena H participa en el sitio de fijación a antígeno; el extremo carboxilo terminal forma el fragmento Fc (fig. 8-3), que tiene varias actividades biológicas (p. ej., activación del complemento y unión a los receptores de superficie celular).

Una molécula individual de anticuerpo siempre consiste en cadenas H idénticas y cadenas L idénticas. La molécula más simple de anticuerpo tiene una forma de Y (fig. 8-3) y consiste en cuatro cadenas polipeptídicas: dos cadenas H y dos cadenas L. Las cuatro cadenas presentan enlaces covalentes por medio de enlaces disulfuro.

Si una molécula de anticuerpo es tratada con una enzima proteolítica (p. ej., papaína) se rompen los enlaces peptídicos en la **región en bisagra** . Esta rotura produce dos fragmentos Fab idénticos, los cuales portan los sitios de fijación a antígenos y un fragmento Fc, que participa en la transferencia placentaria, fijación de complemento, unión a varias células y otras actividades biológicas.

Las cadenas L y H se subdividen en **regiones variables** y **regiones constantes**. Las regiones están compuestas por segmentos repetidos con pliegues tridimensionales, conocidas como dominios. La estructura de estos dominios se ha determinado por medio de cristalografía con rayos X de alta resolución. Una cadena L consiste en un dominio variable (V_L) y un dominio constante (C_L). La mayor parte de las cadenas H consisten en un dominio variable (V_H) y tres o más dominios constantes (C_H). Cada dominio tiene una longitud de casi 110 aminoácidos. Las regiones variables participan en la unión con antígenos; las regiones constantes son causantes de las funciones biológicas descritas a continuación.

En las regiones variables de las cadenas L y H hay subregiones que consisten en secuencias de aminoácidos con extrema variabilidad (**hipervariables**) que forman el sitio de unión con antígenos. Las regiones hipervariables forman el área de la molécula del anticuerpo que es complementaria en estructura con

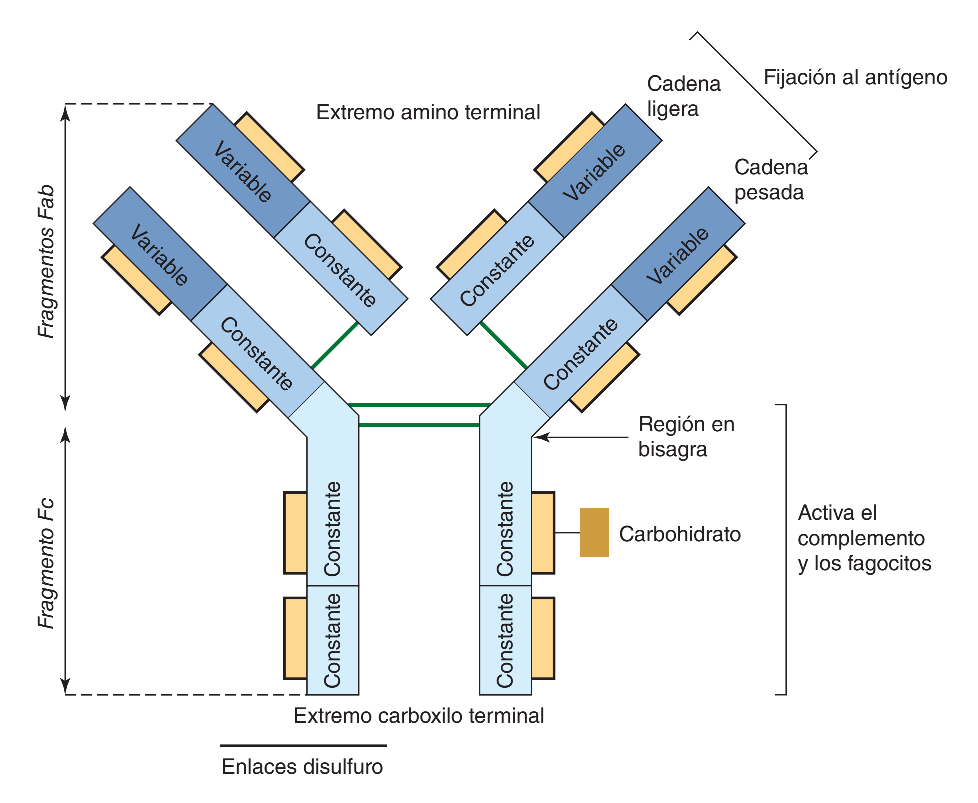


FIGURA 8-3 Representación esquemática de una molécula de IgG, que indica la ubicación de las regiones constante y variable en las cadenas ligera y pesada. Fragmento Fab, fragmento de fijación de antígeno; fragmento Fc, fragmento cristalizable.

CUADRO 8-1. Propiedades de las inmunoglobulinas humanas

	IgG	IgA	IgM	IgE	IgD
Símbolo de cadena pesada	γ	α	μ	ε	δ
Peso molecular (×1 000)	150	170-600[a]	900	190	150
Concentración sérica (mg/ml)	7-18	0.8-4	0.4-2.5	<0.0005	<0.003
Vida media (días)	21	7	7	2	2
Activa el complemento	Sí (+)	No	Sí (++)	No	No
Porcentaje de inmunoglobulina total en suero	80	13	6	<1	<1

[a] En secreciones, por ejemplo, de saliva, lácteas, en lagrimas y en aquellas de aparatos respiratorio, intestinal y genital, la IgA se encuentra como un dímero o un tetrámero, pero la IgA en suero aparecen en forma de monómero.

el determinante antigénico o con el epitopo y por tanto también se conocen como regiones determinantes de la complementariedad (CDR, *complementarity determining regions*). Sólo cinco a 10 aminoácidos en cada región hipervariable constituyen el sitio de unión a antígenos. La unión a antígenos no es covalente, e incluye a las fuerzas de van der Waals, electrostáticas y otras fuerzas débiles así como a enlaces de hidrógeno y otros tipos de enlaces.

Las moléculas pequeñas como los haptenos se unen a los anticuerpos en una fisura formada por los dominios variables de las cadenas ligera y pesada. Se lleva a cabo la interacción del anticuerpo con grandes proteínas originales (p. ej., una proteína viral) con un cambio conformacional o un epitopo discontinuo que representa un área de superficie del antígeno proteínico. La mayor parte o todos los CDR de las moléculas de anticuerpos participan en esta unión.

Clases de inmunoglobulinas

A. IgG

Cada molécula de IgG consiste en dos cadenas L y dos cadenas H unidas por enlaces disulfuro (fórmula molecular H_2L_2). Tiene dos sitios idénticos de unión a antígeno y por tanto se dice que es divalente. Hay cuatro subclases (desde IgG1 hasta IgG4), con base en las diferencias de secuencias de aminoácidos y en las cadenas H, así como en el número y ubicación de los enlaces disulfuro. La IgG1 corresponde al 65% de la IgG total; IgG2 se dirige contra antígenos de polisacáridos y puede ser una defensa importante del hospedador contra bacterias encapsuladas.

El anticuerpo predominante en la respuesta secundaria es IgG y constituye una defensa importante contra virus y bacterias. Es el único anticuerpo que pasa la placenta y por tanto es la inmunoglobulina más abundante en recién nacidos.

B. IgM

En la respuesta inmunitaria *primaria*, IgM es la principal inmunoglobulina producida en etapas iniciales; se presenta en la superficie de prácticamente todas las células B no comprometidas. Está compuesta por cinco unidades H_2L_2 (cada una similar a una unidad IgG) y una molécula de cadena J (reunión) (fig. 8-4). El pentámero (peso molecular, 900 000) tiene un total de 10 sitios idénticos de fijación a antígeno y por tanto una valencia de 10.

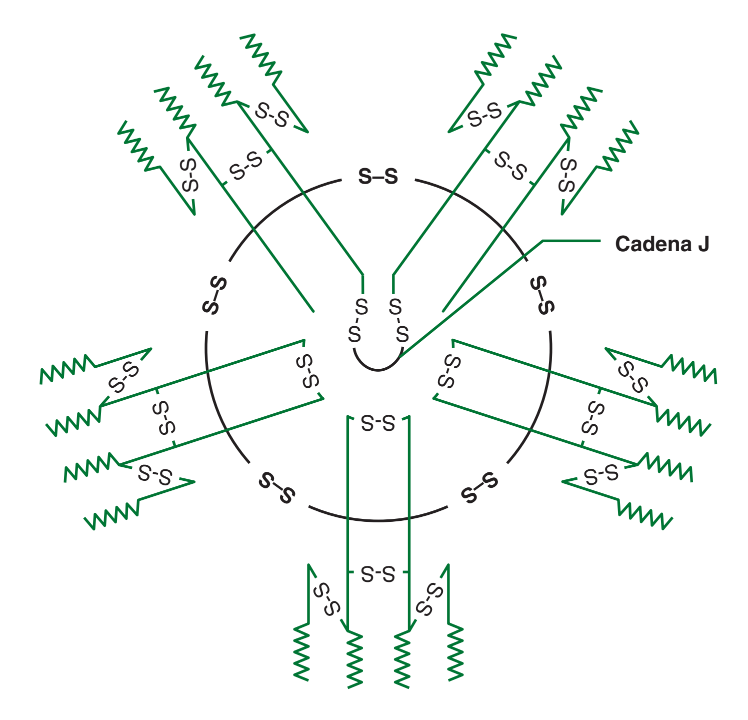


FIGURA 8-4. Esquema de la estructura pentamérica de la IgM humana. Los monómeros de IgM se conectan uno con otro y con la cadena J mediante enlaces disulfuro.

Es la inmunoglobulina más eficaz en cuanto a aglutinación, fijación del complemento y otras reacciones antígeno-anticuerpo y es importante en la defensa contra virus y bacterias. Puede ser producida por un feto que sufre una infección. Por su interacción con antígenos puede incluir los 10 sitios de fijación y tiene la mayor avidez de todas las inmunoglobulinas.

C. IgA

La IgA es la principal inmunoglobulina en secreciones como leche, saliva y lágrimas, así como en secreciones del aparato respiratorio, tubo digestivo y aparato reproductor. Protege a las mucosas de los ataques por bacterias y virus.

Cada molécula de IgA secretora (peso molecular 400 000) consiste en dos unidades H_2L_2 y una molécula cada una de cadena J y componentes secretores. Estas últimas son una proteína derivada del desdoblamiento del receptor poli-Ig. Este

receptor une dímeros de IgA y facilita su transporte a través de las células de epitelios mucosos. Existe cierta cantidad de IgA en suero en forma de monómero H_2L_2 (peso molecular, 170 000). Hay al menos dos clases, IgA1 e IgA2. Algunas bacterias (p. ej., *Neisseria*) pueden destruir IgA1 al producir una proteasa, lo que supera la resistencia de las mucosas mediada por anticuerpos.

D. IgE

La región Fc de IgE se une a un receptor en la superficie de las células cebadas, basófilos y eosinófilos. Esta IgE unida actúa como receptor para antígenos que estimulan su producción y el complejo antígeno-anticuerpo resultante desencadena la respuesta alérgica de tipo inmediato (anafiláctica) mediante la liberación de mediadores. En personas con tales reacciones de hipersensibilidad alérgica mediada por anticuerpos, las concentraciones de IgA se incrementan en gran medida y aparece IgE en secreciones externas. Por lo común hay un incremento en las concentraciones séricas de IgE durante infecciones por helmintos.

E. IgD

IgD actúa como receptor de antígenos cuando se presenta la superficie de ciertos linfocitos B. En el suero está presente sólo en cantidades mínimas.

Genes de inmunoglobulinas y generación de diversidad

Los mecanismos genéticos especiales han evolucionado para producir un gran número de moléculas de inmunoglobulina (casi 10^{11}) que se desarrolla en el hospedador en respuesta a la estimulación antigénica sin que se requieran cantidades excesivas de genes. Así, los genes de inmunoglobulinas (y, como se verá más adelante, los genes de los receptores de linfocitos T) sufren recombinación somática para producir una gran diversidad de especificidades de anticuerpos.

Cada cadena de inmunoglobulina consiste en una región variable (V) y constante (C). Para cada tipo de inmunoglobulina [(es decir, cadena ligera kappa (κ), cadena ligera lambda (λ) y las cinco cadenas pesadas (γH, μH, αH, εH, y δH)] hay un grupo separado de segmentos génicos ubicados en diferentes cromosomas. En los seres humanos se encuentran familiares multigénicos en los siguientes cromosomas: λ, cromosoma 22; κ, cromosoma 2, y la familia de cadenas pesadas en el cromosoma 14. Cada uno de los tres loci genéticos contienen un grupo diferente de segmentos génicos V separados por segmentos génicos C. Durante la diferenciación de linfocitos B, hay reordenamiento del DNA para acercar segmentos génicos selectos. Una familia de enzimas conocidas como recombinasas V(D)J son causantes de este proceso de reordenamiento génico.

La región variable de cada cadena L está codificada por los segmentos génicos: V y J. La región variable de cada cadena H está codificada por tres segmentos génicos: V, D y J. Los segmentos están unidos en genes variables V mediante el reordenamiento de DNA. Cada gen variable V ensamblado se transcribe con el gen constante C apropiado para producir el RNA mensajero (mRNA) que codifica la cadena peptídica completa. Las cadenas L y H son sintetizadas por separado en polisomas y finalmente ensambladas en el citoplasma para formar las unidades H_2L_2 por medio de enlaces disulfuro. Más tarde se añaden radicales carbohidrato durante el proceso a través de componentes de la membrana celular (p. ej., aparato de Golgi) y se libera la molécula de inmunoglobulina de la célula.

Los mecanismos de reordenamiento génico permiten ensamblar una enorme variedad de moléculas de inmunoglobulinas. La diversidad de los anticuerpos depende de: 1) múltiples segmentos génicos V, L y J; 2) asociación combinatoria, es decir, la asociación de cualquier segmento génico V con cualquier segmento D o J; 3) combinación aleatoria de diferentes cadenas L y H; 4) hipermutación somática, y 5) diversidad de empalme, creada por la unión imprecisa durante el reordenamiento con la adición de nucleótidos mediante la enzima desoxinucleótido transferasa terminal para formar una unión completa.

Intercambio de clases de inmunoglobulinas

Al inicio, todos los linfocitos B compatibles con un antígeno portan IgM específica para dicho antígeno y producen IgM en respuesta a su exposición al antígeno. Más tarde, el reordenamiento génico permite la elaboración de anticuerpos de la misma especificidad antigénica pero de diferentes clases de inmunoglobulinas. En el **intercambio de clases** el mismo gen V_H ensamblado puede asociarse de forma secuencial con diferentes genes C_H, de manera que la inmunoglobulina producida más tarde (IgG, IgA o IgE) tenga la misma especificidad que la IgM original de las diferentes características biológicas. El intercambio de clase depende de la citocina liberada por los linfocitos B y también ocurre después de la estimulación antigénica.

RECEPTORES DE SUPERFICIE CELULAR PARA EL ANTÍGENO

Receptor para el antígeno de linfocitos B

La células B expresan una forma de IgM que se encuentra en la superficie celular. La IgM de superficie celular tiene la misma especificidad antigénica que la molécula de IgM secretada. Esto se logra mediante un mecanismo de empalme diferencial de RNA. La transcripción de RNA de la cadena μ puede incluir una secuencia que codifica casi 25 aminoácidos hidrófobos, lo que permite que la molécula de IgM se localice en la membrana celular como receptor transmembrana. Más tarde en el desarrollo de los linfocitos B, la regulación del procesamiento de RNA permite la expresión de una forma de IgD unida a membrana, una vez más con la misma especificidad de unión a antígeno. Mediante este proceso, el mismo segmento de la región V se expresa con diferentes segmentos de la región C.

Como un receptor unido a la membrana, IgM o IgD interactúan con otras moléculas de la superficie celular, conocidas como Igα e Igβ, que pueden transducir señales subsiguientes para unirse al antígeno mediante la interacción con moléculas de tirosina cinasa y los demás componentes de la maquinaria de transducción de señales. Estas señales ocasionan eventos bioquímicos que incluyen fosfatasas intracelulares, cinasas, proteínas de fijación a

GTP, mediadores lipídicos, y a un calcio y otros intermediarios, que finalmente conducen a la activación de la célula.

Receptor para el antígeno de linfocitos T

El receptor de células T es una proteína heterodimérica transmembrana compuesta por cadenas unidas por enlaces disulfuro. Este receptor es similar a los fragmentos Fab de las inmunoglobulinas, unidos a la membrana. Hay dos clases diferentes de receptores de células T. Las dos cadenas se conocen como α y β en una clase y como γ y δ en otra. Las células T que expresan γδ son relativamente infrecuentes en seres humanos y parecen estar predispuestas al reconocimiento de antígenos bacterianos encontrados con frecuencia, por ejemplo, ciertos glucolípidos y radicales lipídicos fosforilados. Las células T αβ constituyen el fenotipo predominante de linfocitos T y se subdividen con base en su expresión de otros marcadores de superficie celular, las proteínas conocidas como CD4 y CD8, en clases funcionales auxiliadoras y citotóxicas, respectivamente.

Las proteínas de los receptores de linfocitos T tienen regiones variable y constante similares a los anticuerpos. Las regiones variables se ubican en los extremos amino terminal de la cadena polipeptídica muy lejos de la membrana celular. Ambas cadenas contribuyen al dominio variable que parece interactuar con el antígeno presentado por proteínas propias, codificadas en el complejo de histocompatibilidad mayor (MHC, *major histocompatibility complex*).

Los genes de los receptores de linfocitos T simulan los genes de inmunoglobulinas y la generación de diversidad en los receptores de estos linfocitos se logra en una forma análoga a la descrita antes para las inmunoglobulinas. Así, hay múltiples segmentos de regiones variables, que contribuyen a un repertorio de diferentes especificidades de antígenos; múltiples segmentos V, D y J se combinan en formas diferentes, en una forma muy similar a los anticuerpos y mediante la combinación aleatoria de grandes cantidades de cadenas α y β. Hay dos diferencias de las situaciones descritas antes para los anticuerpos: 1) no se cuenta con evidencia de mutación somática en los receptores de linfocitos T, y 2) el potencial para incrementar el repertorio de especificidades potenciales de antígenos por diversidad de empalme es mucho mayor para los receptores de linfocitos T que para los anticuerpos. Hay más segmentos J y D para genes de dichos receptores que para genes de inmunoglobulinas. Sin embargo, en esencia, la codificación de receptores de linfocitos T es mucho más similar a la descrita para las inmunoglobulinas. Por ejemplo, las regiones variables para las cadenas α y γ de los receptores de linfocitos T probablemente tengan regiones variables de cadenas ligeras de inmunoglobulinas en los segmentos V y J, en tanto que las cadenas β y δ probablemente sean cadenas pesadas de inmunoglobulinas codificadas por los segmentos V, D y J.

En todas las células funcionales específicas para antígeno, las dos cadenas de receptores de linfocitos T tienen asociación no covalente con otras seis cadenas polipeptídicas compuestas por cuatro diferentes proteínas que constituyen el complejo CD3. Las proteínas invariantes del complejo CD3 causan la traducción de la señal recibida por el receptor de linfocitos T para el reconocimiento del antígeno hacia el interior de la célula. Las cuatro proteínas diferentes del complejo CD3 son proteínas transmembrana que pueden interactuar con tirosinas cinasas citosólicas en el interior de la membrana. Esta interacción inicia los eventos bioquímicos de transducción de señales que conducen a la transcripción génica, activación celular e inicio de las actividades funcionales de los linfocitos T.

Las moléculas CD4 y CD8 se diferencian en dos clases funcionales principales de linfocitos T que actúan como correceptores de moléculas en la superficie de los linfocitos T. Durante el reconocimiento del antígeno, las moléculas CD4 y CD8 interactúan con el complejo de receptores de linfocitos T y las moléculas MHC. La proteína CD4 se une a las moléculas MHC de clase II en tanto que las moléculas CD8 se unen con las moléculas MHC de clase I. Esto incrementa en gran medida la sensibilidad para el reconocimiento de antígenos por los linfocitos T.

Complejo de histocompatibilidad mayor

El complejo de histocompatibilidad mayor (MHC, *major histocompatibility complex*) se detectó por primera vez como un locus genético que codifica moléculas de glucoproteínas (antígenos de trasplante) causantes del rechazo rápido de injertos hísticos trasplantados entre individuos no idénticos desde el punto de vista genético. Se sabe que las moléculas MHC se unen a antígenos peptídicos y los presentan a los linfocitos T. Así, estos antígenos de trasplante son causantes del alojamiento de antígenos por los receptores de linfocitos T. En este sentido, los receptores de linfocitos T son diferentes de los anticuerpos. Las moléculas de anticuerpos interactúan con los antígenos directamente; los receptores de linfocitos T sólo reconocen los antígenos presentados por las moléculas MHC sobre otra célula, la célula presentadora de antígenos. El receptor de linfocitos T es específico para el antígeno, pero el antígeno debe presentarse como una molécula MHC propia. El receptor de linfocitos T también es específico para moléculas MHC. Si el antígeno se presenta por otra forma alélica de molécula MHC *in vitro* (por lo común en situaciones experimentales), no hay reconocimiento por el receptor de linfocitos T. Este fenómeno se conoce como restricción MHC.

En seres humanos, el MHC es un grupo de genes ampliamente estudiados, ubicados en el cromosoma 6. Entre los muchos genes importantes en los MHC humanos, también conocidas como HLA (*human leukocyte antigens*) se encuentran aquellos que codifican las proteínas MHC de clases I, II y III. Como se menciona en el cuadro 8-2, las proteínas de clase I son codificadas por los genes HLA-A, B y C. Tales proteínas están formadas por dos cadenas: 1) una glucoproteína transmembrana con peso molecular de 45 000 con un enlace no covalente con 2) un polipéptido no codificado por MHC con peso molecular de 12 000, que se conoce como microglobulina β_2. Las moléculas de clase I parecen encontrarse en prácticamente todas las células nucleadas del cuerpo.

Las proteínas de clase II son codificadas por la región HLA-D. Como se muestra en el cuadro 8-2, hay tres grupos principales, las moléculas codificadas por DP, DQ y DR. Estos loci mantienen el control de la respuesta inmunitaria y diferentes formas alélicas de estos genes confieren diferencias notables en la capacidad de desencadenar una respuesta inmunitaria contra un antígeno dado.

Las proteínas codificadas por el locus HLA-D están constituidas por dos glucoproteínas transmembrana asociadas por enlaces no covalentes con un peso molecular de 33 000 y 29 000. A diferencia de las proteínas de clase I, tienen una distribución restringida en los tejidos y se encuentran principalmente en los macrófagos, linfocitos B y otras células presentadoras de antígeno. Su expresión en otras células (p. ej., células endoteliales) puede inducirse con interferón gamma.

CUADRO 8-2 Características importantes de algunos productos génicos de MHC humana

	Clase I	Clase II
Loci genéticos (lista parcial)	HLA-A, B y C	HLA-DP, DQ y DR
Composición polipeptídica	Peso molecular 45 000 + β_2M (peso molecular 12 000)	Cadena α (peso molecular, 33 000), cadena β (peso molecular, 29 000), cadena li (peso molecular, 30 000)
Distribución celular	Todas las células somáticas nucleadas	Células presentadoras de antígeno (macrófagos, linfocitos B, etc.), linfocitos T humanos activados
Presentan péptidos antigénicos	Linfocitos T CD8	Linfocitos T CD4
Tamaño de la unión peptídica	8 a 11 residuos	10 a 30 o más residuos

El locus MHC de clase II también incluye genes que codifican proteínas que participan en el procesamiento de antígenos, p. ej., TAP (fig. 8-7). El locus MHC de clase III codifica proteínas del complemento y varias citocinas.

Los genes de MHC muestran una variabilidad genética notable; las MHC son **poligénicas** porque hay varios genes para cada clase de molécula. Las MHC también son **polimórficas**. Así, existe un gran número de alelos en la población para cada gen. Cada individuo hereda un grupo restringido de alelos de sus padres. Los grupos de genes MHC tienden a heredarse como un bloque o **haplotipo** y es relativamente infrecuente que ocurran eventos cruzados en este locus.

Existe amplio conocimiento con respecto a la organización estructural y secuencia de los genes y proteínas MHC. Quizá la información más importante provenga de los análisis de cristales con rayos X de proteínas MHC. Tales estudios ayudaron a explicar con claridad la función de las proteínas MHC. El análisis con rayos X (fig. 8-5) muestra que los dominios de las moléculas de MHC de clase I se encuentran bastante lejos de la membrana y están compuestas por dos hélices α paralelas por encima de una plataforma creada por una hoja con plegamiento β. La estructura en su conjunto tiene el aspecto de una **hendidura** cuyos lados están formados por hélices α y recubiertas por hojas β. El análisis con rayos X también muestra que la hendidura fue ocupada por un péptido. En esencia, los receptores de linfocitos T perciben al péptido antigénico unido en una hendidura creada por la proteína MHC. En la figura 8-6A se presenta un diagrama simplificado de esta interacción.

Las proteínas MHC muestran una amplia especificidad para los antígenos peptídicos y muchos péptidos diferentes pueden presentarse por un alelo MHC dado (un péptido unido a la vez). Las hélices α forman la hendidura en el sitio de los residuos de los aminoácidos que son polimórficos en las proteínas MHC (aquellos que varían entre los alelos). Esto significa que los diferentes alelos fijan y presentan diferentes antígenos polipeptídicos. Por todas estas razones, el polimorfismo MHC tiene un efecto importante en el reconocimiento de antígenos.

El análisis de la función de los linfocitos T con respecto a la interacción con moléculas MHC revela que los antígenos peptídicos relacionados con moléculas MHC de clase I son reconocidos por linfocitos T citotóxicos positivos para CD8, en tanto que los antígenos peptídicos relacionados con la clase II son reconocidos por linfocitos T auxiliadores positivos para CD4.

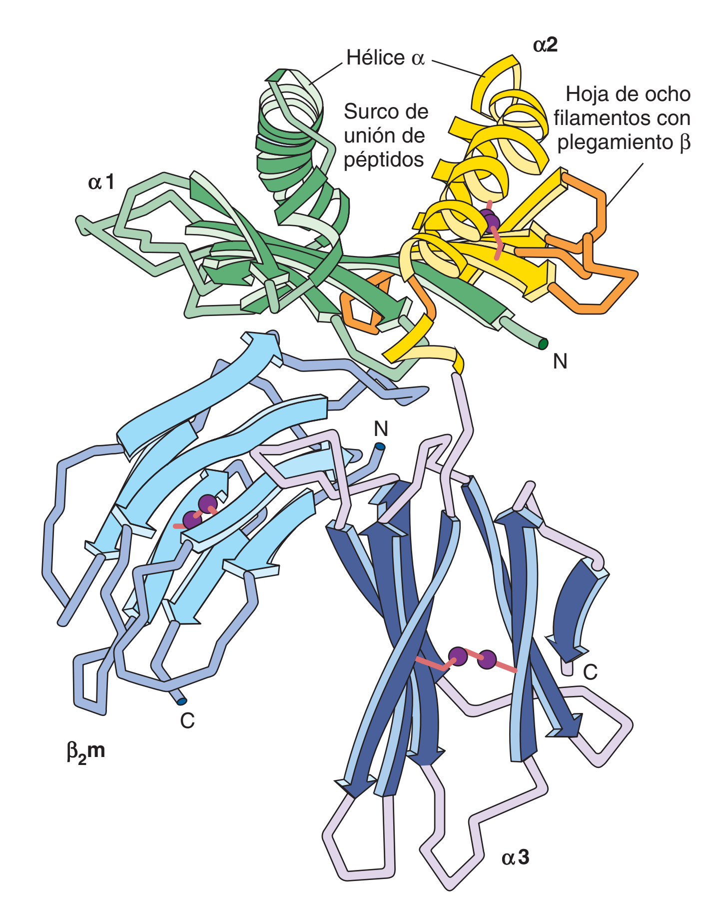


FIGURA 8-5 Diagrama estructural de la molécula HLA de clase I. (Reproducida con autorización de Bjorkman PJ et al: Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. Nature 1987;329:506.)

Familia de supergenes de inmunoglobulinas

Todas las moléculas revisadas (anticuerpos, receptores de linfocitos T y proteínas MHC) tienen características estructurales en común. Todas estas moléculas (y una larga lista de otras moléculas relevantes desde el punto de vista inmunitario, lo que incluye los marcadores de subpoblaciones de linfocitos T como CD4 y CD8) tienen una estructura de dominio construida sobre características tridimensionales conocidas como **plegamiento de inmunoglobulinas**. Sin duda, los miembros de esta familia evo-

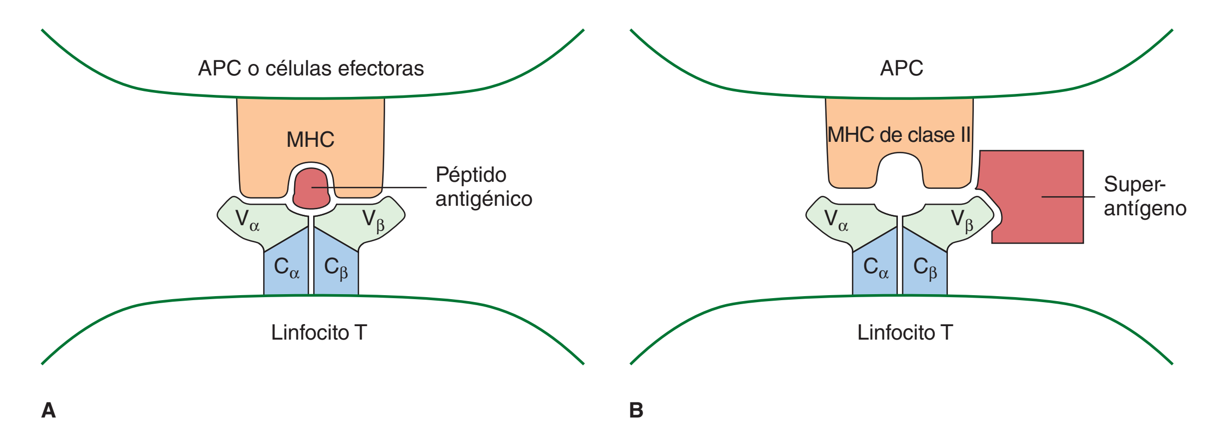


FIGURA 8-6 Fijación de antígeno por MHC y el receptor de linfocito T. En la ***imagen A*** se muestra un modelo de interacción entre el péptido antigénico, MHC y el receptor de linfocitos T. Las regiones V_α y V_β de TCR muestran la interacción con las hélices α que forman el surco de unión peptídica de MHC. En la ***imagen B*** se muestra un modelo de interacción entre un superantígeno, MHC y el receptor de linfocito T. El superantígeno interactúa con la región V_β de TCR y con la molécula MHC de clase II fuera del surco de unión peptídica. (Adaptada de Stites DG et al [editors]: *Medical Immunology*, 9th ed. McGraw-Hill, 1997.)

lucionaron de forma tal que proporcionaron funciones comunes al organismo. Una parte de esta función es actuar como unidad de reconocimiento o como receptor en la superficie celular.

Procesamiento y presentación de antígenos

El procesamiento y presentación de antígenos son los medios por los cuales los antígenos se asocian con las moléculas MHC propias para la presentación a las células T con los receptores apropiados. Las proteínas de antígenos exógenos, como bacterias, son internalizadas por medio de vesículas endocíticas hacia las células presentadoras de antígeno, como los diversos tipos de células dendríticas y macrófagos. Más tarde, como se ilustra en la figura 8-7, están expuestas a proteasas celulares en vesículas intracelulares. En las vesículas endocíticas se generan péptidos, con longitud cercana a 10 a 30 residuos de aminoácidos. Las vesículas endocíticas pueden fusionarse con vesículas exocíticas que contienen moléculas MHC de clase II.

Las moléculas MHC de clase II se sintetizan, al igual que otras glucoproteínas de membrana, en el retículo endoplásmico rugoso y son procesadas a través del aparato de Golgi. Un tercer polipéptido, la **cadena invariable** (**Ii**) protege el sitio de fijación del dímero de clase II αβ hasta que se reduce el pH del compartimiento creado después de la fusión con una vesícula endosómica, lo que causa disociación de la cadena Ii. El complejo de antígeno-péptido MHC de clase II se transporta a la superficie celular para su desplazamiento de reconocimiento por los receptores de linfocitos T del de linfocitos T CD4.

Los antígenos endógenos (p. ej., proteínas virales citosólicas sintetizadas en una célula infectada) son procesados por la presentación de moléculas MHC de clase I. Algunos de los pasos involucrados se muestran en la figura 8-7. En breve, las proteínas citosólicas son desdobladas por un complejo proteolítico conocido como **proteasoma**. El péptido citosólico gana el acceso a las moléculas MHC de clase I naciente en el retículo endoplásmico rugoso a través de sistemas de transporte de péptidos (transportadores asociados con procesamiento de antígenos; TAP). Los genes TAP también son codificados en MHC. En el interior de la luz del retículo endoplásmico, los antígenos peptídicos de casi ocho a 11 residuos de longitud forman complejos con moléculas MHC de clase I nacientes y cooperan con la microglobulina β_2 para crear un complejo de péptido antigénico-molécula MHC de clase I completamente plegada que más tarde es transportada a la superficie celular para su reconocimiento por los linfocitos T CD8 citotóxicos.

El surco de fijación de la molécula clase I está más limitado que otras moléculas de clase II y por esta razón se encuentran péptidos más cortos en las moléculas MHC de clase I que en las de clase II.

La comprensión de los detalles del procesamiento de antígenos ha clarificado la comprensión con respecto a la función de la linfocitos T. Así, ahora se comprende por qué los linfocitos T no responden a los antígenos de carbohidratos (no podrían ajustarse en el surco) y por qué los linfocitos T reconocen sólo determinantes antigénicos lineales (responden sólo a antígenos con procesamiento proteolítico). Si un antígeno es destinado para la presentación de clase I o II depende sólo de los compartimientos intracelulares que atraviese.

Varios virus intentan superar la respuesta inmunitaria al interferir con las vías de procesamiento de antígenos. Por ejemplo, en el caso de VIH, la proteína Tat es capaz de inhibir la expresión de moléculas MHC de clase I. La proteína del herpesvirus se une a una proteína transportadora (TAP), lo que evita el transporte de péptidos virales hacia el retículo endoplásmico, donde se sintetizan las moléculas de clase I. Una consecuencia de estos mecanismos inhibidores es que tales virus pueden evadir la respuesta inmunitaria porque las células que son infectadas no son reconocidas por los linfocitos efectores.

Algunos **superantígenos** son capaces de unirse a moléculas MHC fuera de la hendidura de unión de péptidos. Una consecuencia es que mientras que un péptido individual forma complejos con una molécula MHC, lo que estimulará normalmente sólo un pequeño porcentaje de linfocitos T en un individuo, los superantígenos causarán que hasta 10% de los linfocitos T presenten activación inespecífica. Ejemplos de superantígenos incluyen ciertas toxinas bacterianas, como enterotoxinas estafilocócicas, toxinas del síndrome de choque tóxico y exotoxina A pirógena de estreptococo del grupo A. Tales antígenos se unen "con el exterior" de la proteína MHC y con el receptor de linfo-

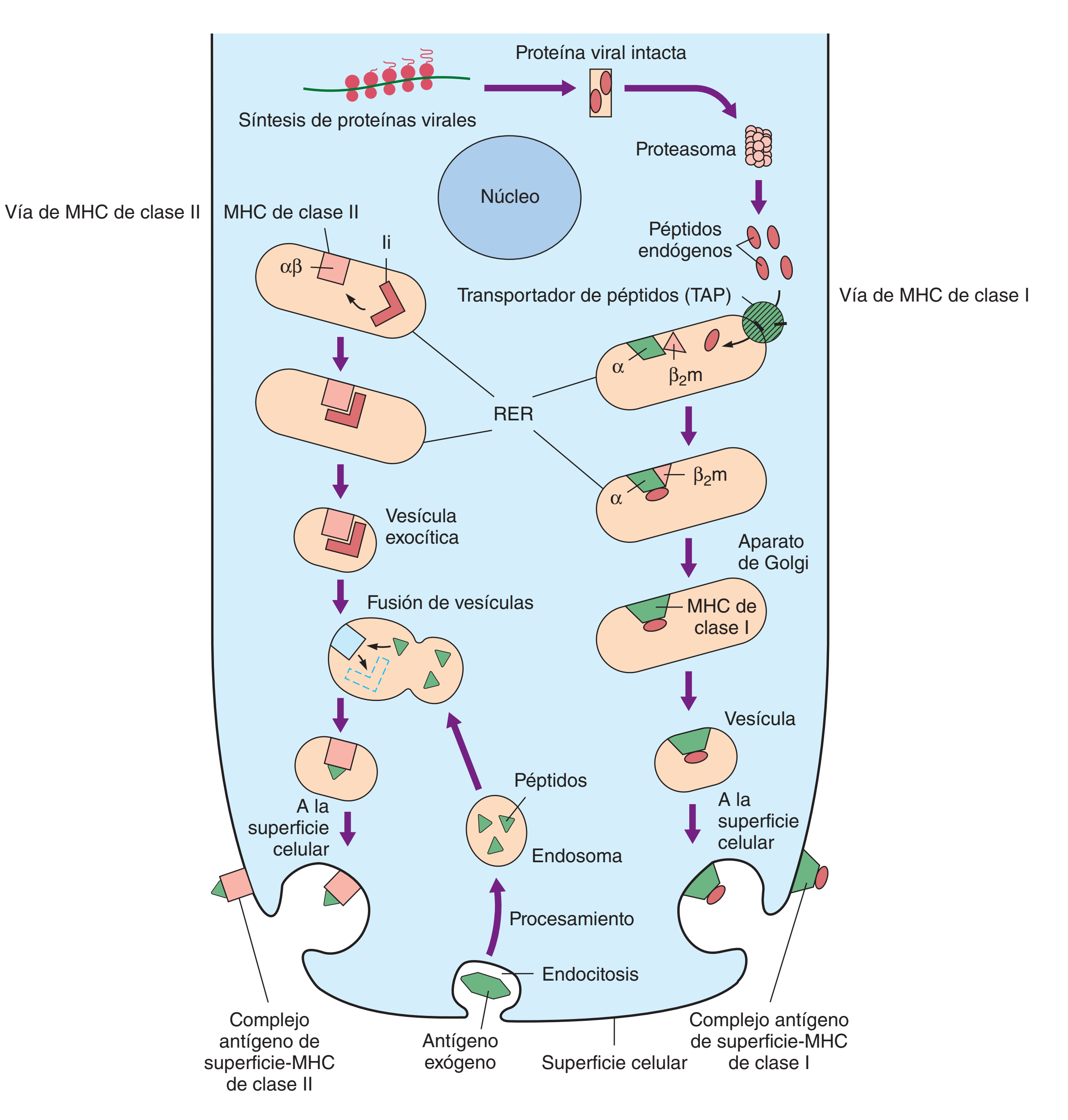


FIGURA 8-7 Vías de procesamiento de antígenos. (Modificada y reproducida con autorización de Parslow TG et al [editors]: *Medical Immunology*, 10th ed. McGraw-Hill, 2001.)

citos T (fig. 8-6B). Se encuentran más a concentraciones muy bajas (10^{-9} mol/L) y ocasionan que los linfocitos T expresen secuencias particulares Vβ y se estimule la producción y liberación de grandes cantidades de citocinas, lo que incluye IL-1 y factor de necrosis tumoral (TNF, *tumor necrosis factor*). Es la liberación de grandes cantidades de citocinas por la estimulación de un gran porcentaje de los linfocitos T acumulados lo que explica en gran extensión la fisiopatología de las enfermedades causadas por microorganismos que expresan superantígenos.

INMUNIDAD MEDIADA POR ANTICUERPOS (HUMORALES)

Respuesta primaria

Cuando un individuo se encuentra con un antígeno por primera vez, los anticuerpos contra dicho antígeno son detectables en el suero en unos cuantos días o semanas, lo que depende de la naturaleza y dosis del antígeno y de la vía de administración (p. ej., oral, parenteral). La concentración sérica de anticuerpos continúa incrementándose por varias semanas y más tarde disminuye; puede caer a concentraciones muy bajas (fig. 8-8). Los primeros anticuerpos formados son IgM, seguidos de IgG, IgA o ambos. Las concentraciones de IgM tienden a reducir más rápido que las concentraciones de IgG.

Respuesta secundaria

En el caso de que ocurra un segundo encuentro con el mismo antígeno (o uno estrechamente relacionado, en forma de una “reacción cruzada”) meses o años después de la respuesta primaria, la respuesta de anticuerpos es más rápida y se incrementa a concentraciones mucho más elevadas que durante la respuesta primaria. El cambio en la respuesta se atribuye a la persistencia de “células de memoria” sensibles a antígenos después

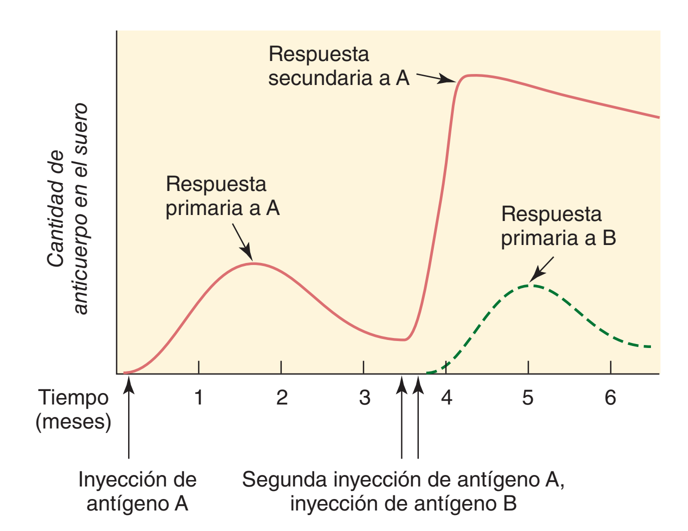


FIGURA 8-8 Tasa de producción de anticuerpos después de la administración inicial de un antígeno y una segunda aplicación "de refuerzo".

de la respuesta inmunitaria primaria. En la respuesta secundaria, la cantidad de IgM producida es cualitativamente similar a la producida después del primer contacto con el antígeno; sin embargo, se producen cantidades mucho más elevadas de IgG y la concentración de IgG tiende a persistir por periodos más prolongados que en la respuesta primaria. Además, tales anticuerpos tienden a unirse a antígenos de manera más firme (tienen mayor afinidad) y por tanto se disocian con mayor dificultad.

Funciones protectoras de los anticuerpos

Por la estrecha complementariedad estructural entre los anticuerpos y los antígenos que desencadenaron su producción, los dos tienden a unirse uno con otro en cualquier sitio que se encuentren, tanto *in vitro* como *in vivo*. Esta unión es de tipo no covalente e incluye fuerzas electrostáticas, de van der Waals y otras fuerzas débiles, así como la formación de enlaces de hidrógeno y de otros tipos. Los anticuerpos pueden producir resistencia a la infección mediante opsonización de los microorganismos, lo que los hace más susceptibles a la fagocitosis; los anticuerpos pueden unirse a virus y reducir su capacidad para unirse con moléculas de receptores celulares y para causar la invasión de las células del hospedador; de la mayor importancia, los anticuerpos son capaces de neutralizar toxinas de microorganismos (p. ej., difteria, tétanos y botulismo) y desactivar sus efectos nocivos.

Los anticuerpos pueden inducirse de manera activa en el hospedador mediante la administración de antígenos o preparaciones apropiadas que los contengan (toxoides de difteria, tétanos), pero la protección se retrasa hasta que los anticuerpos alcanzan concentraciones útiles. Por el contrario, los anticuerpos pueden administrarse en forma pasiva (preformados en otro hospedador), lo que los hace disponibles de inmediato para fines preventivos o terapéuticos. Este último método (inmunización pasiva) se ha utilizado en el tratamiento de lesiones por punción en individuos no vacunados contra la hepatitis B.

La inmunidad mediada por anticuerpos contra bacterias es más eficaz cuando se dirige contra infecciones microbianas en las cuales gran parte de su virulencia está relacionada con las cápsulas de polisacáridos (p. ej., neumococo, *Haemophilus, Neisseria*). En tales infecciones, los anticuerpos forman complejos con antígenos capsulares y hacen susceptible al microorganismo de fagocitosis y destrucción en el interior de dichas células.

Muchas respuestas inmunitarias celulares también requieren la cooperación de anticuerpos dirigidos contra los antígenos agresores antes que más tarde sean desactivados o eliminados (véase adelante). Por el contrario, la unión de anticuerpos con antígenos conduce la formación de complejos inmunitarios y el depósito de tales complejos puede ser una característica importante en el desarrollo de disfunción orgánica, por ejemplo, la glomerulonefritis posestreptocócica.

SISTEMA DEL COMPLEMENTO

El sistema del complemento incluye proteínas séricas y unidas a la membrana que funcionan para los sistemas de defensa del hospedador tanto innatos como adaptativos. Estas proteínas se encuentran muy reguladas e interactúan a través de una serie de cascadas proteolíticas. El término "complemento" se refiere a la capacidad de estas proteínas para complementar (incrementar) los efectos de otros componentes del sistema inmunitario (p. ej., anticuerpos). El complemento tiene varios efectos principales: 1) lisis de las células (p. ej., bacterias y células tumorales); 2) producción de mediadores que participan en la inflamación y en la atracción de fagocitos; 3) consolidación de microorganismos y complejos inmunitarios para su eliminación por fagocitosis, y 4) incremento de la respuesta inmunitaria mediada por anticuerpos. Las proteínas del complemento se sintetizan principalmente en el hígado y por las células fagocíticas.

Activación del complemento

Varios componentes del complemento son proenzimas, las cuales deben sufrir desdoblamiento para formar enzimas activas. Los componentes de la vía clásica se enumeran de C1 a C9 y la secuencia de reacción es C1-C4-C2-C3-C5-C6-C7-C8-C9. Hasta C5, la activación implica el desdoblamiento proteolítico, con la liberación de fragmentos más pequeños de C2 a C5. Los fragmentos más pequeños se denotan con una letra a (p. ej., C4a) y los fragmentos grandes con la letra b (p. ej., C5b). La activación del sistema del complemento puede iniciarse por complejos antígeno-anticuerpo o por diversas moléculas que no pertenecen al sistema inmunitario.

La activación secuencial de los componentes del complemento ocurre por tres vías principales (fig. 8-9).

A. Vía clásica

Sólo IgM e IgG activan o fijan el complemento a través de la vía clásica. De las IgG, sólo las subclases 1, 2 y 3 de IgG fijan complemento; IgG4 no lo hace. C1 se une a un sitio en la región Fc y está compuesto por tres proteínas: C1q, C1r y C1s. C1q es un agregado de polipéptidos que se une a la porción Fc de IgG e IgM. El complejo inmunitario antígeno-anticuerpo se une a C1 y activa C1s, el cual desdobla C4 y C2 para formar C4b2b. Este último es una convertasa de C3 activa, que desdobla moléculas

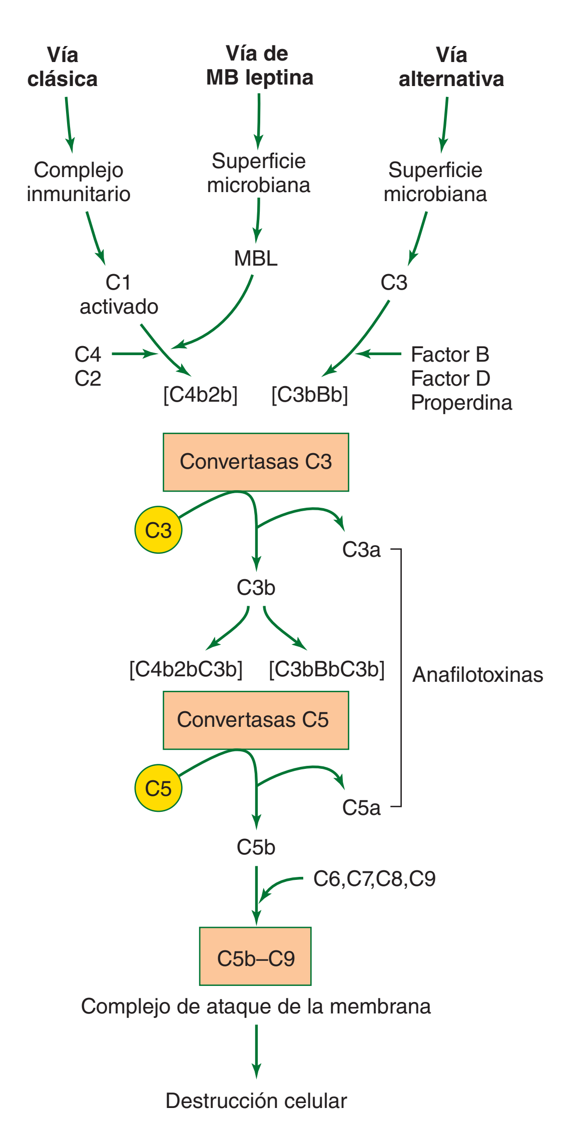


FIGURA 8-9. Secuencia de reacción del complemento.

de C3 en dos fragmentos: C3a y C3b. C3a es una anafilotoxina que se revisa más adelante. C3b forma un complejo con C4b2b, lo que da origen a una nueva enzima, la convertasa de C5, que desdobla C5 para formar C5a y C5b. C5a es una anafilotoxina y factor quimiotáctico (véase adelante). C5b se une a C6 y C7 para formar un complejo que se introduce en la bicapa de la membrana. C8 se fija al complejo C5b/C6/C7, seguido de la polimerización de hasta 16 moléculas C9 para producir el complejo de ataque de la membrana, que genera un conducto o poro en la membrana y causa citólisis al permitir el paso libre de agua a través de la membrana celular.

B. Vía alternativa

Muchas sustancias no relacionadas, desde químicos complejos (p. ej., endotoxinas) hasta agentes infecciosos (p. ej., parásitos) activan una vía diferente. C3 sufre desdoblamiento y se genera una convertasa C3 a través de la acción de los factores B, D y properdina. La convertasa C3 alternativa (C3bBb) genera más C3b. Esta C3b adicional se une a la convertasa C3 para formar C3bBbC3b, que es una vía alternativa de la convertasa C5 y que genera C5b, ocasionando la producción del complejo de ataque de membrana antes descrito.

C. Vías de lectina-manano

En años recientes, surgió el concepto de una vía adicional para la activación del complemento: la vía de lectina MB. Su principal constituyente es una proteína plasmática denominada MBL, que es una abreviatura para lectina transportadora de manano. La MBL se une a residuos de azúcares como manosa que se encuentran en la superficie de polisacáridos de superficie como los LPS. El complejo MBL, cuando se une a superficies microbianas, puede activar C4 y C2. El resto de esta vía es la misma que para la vía clásica de activación del complemento.

Regulación del sistema de complemento

Varias proteínas séricas regulan el sistema del complemento en diferentes etapas: 1) el inhibidor de C1 se une y desactiva la actividad de las proteasas de serina de C1r y C1s; 2) el factor I desdobla C3b, y C4b, con lo que se reduce la cantidad de convertasa C5 disponible; 3) el factor H incrementa el efecto del factor I en C3b, y 4) el factor P (properdina) protege a C3b y estabiliza la convertasa C3 de la vía alternativa. La regulación también es proporcionada por proteínas que tienen la capacidad de acelerar la descomposición de proteínas del complemento, por ejemplo, factor acelerador de la descomposición, una proteína unida a la membrana que se encuentra en la mayor parte de las superficies de células sanguíneas y que puede actuar para acelerar la disociación de las convertasas C3 de ambas vías.

Principales efectos biológicos del complemento

A. Opsonización

Las células, los complejos antígeno-anticuerpo y otras partículas sufren fagocitosis con una eficiencia mucho mayor en presencia de C3b por la presencia de receptores para C3b en la superficie de muchos fagocitos.

B. Quimiotaxis

C5a estimula el desplazamiento de neutrófilos y monocitos hacia los sitios de depósito de antígenos.

C. Anafilotoxinas

C3a y C5a pueden incrementar la permeabilidad vascular y la contracción del músculo liso. También estimulan la liberación de histamina por las células cebadas.

D. Citólisis

La inserción del complejo C5b6789 en la superficie celular conduce la destrucción o lisis de muchos tipos de células, lo que incluye eritrocitos, bacterias y células tumorales.

Consecuencias clínicas de la deficiencia de complemento

Se han descrito muchas deficiencias genéticas de proteínas del complemento y éstas por lo general conducen a mayor susceptibilidad a enfermedades infecciosas; por ejemplo, la deficiencia de C2 con frecuencia ocasiona infecciones bacterianas piógenas

graves. La deficiencia de componentes del complejo de ataque a la membrana incrementa en gran medida la susceptibilidad a las infecciones por bacterias del género *Neisseria*. También se conocen deficiencias en componentes de la vía alternativa; por ejemplo, la deficiencia de properdina se asocia con mayor susceptibilidad a enfermedades por meningococos. También hay deficiencias en las proteínas reguladoras de complemento. Por ejemplo, la falta de proteína inhibidora C1 ocasiona angioedema hereditario.

INMUNIDAD CELULAR

La inmunidad mediada por anticuerpos es más importante en los trastornos inducidos por toxinas, en infecciones microbianas en las cuales las cápsulas de polisacáridos determinan la virulencia y como parte de las respuestas de defensa del hospedador contra algunas infecciones virales. Sin embargo, en la mayor parte de infecciones microbianas, es la inmunidad celular la que proporciona resistencia y facilita la recuperación, aunque puede ser necesaria la cooperación de los anticuerpos. Además, la inmunidad celular es fundamental en la defensa del hospedador contra patógenos intracelulares como virus y para combatir células tumorales. La importancia de la inmunidad celular se hace más evidente en situaciones clínicas en las cuales su supresión (p. ej., en el caso del sida) ocasiona infecciones o tumores muy agresivos.

El sistema de inmunidad celular incluye varios tipos celulares y sus productos. Las APC presentan antígenos a los linfocitos T a través de sus proteínas MHC situadas en la superficie celular. Los receptores de linfocitos T reconocen el antígeno y se activan clonas específicas de linfocitos T e inician su proliferación. Por el número de subpoblaciones de linfocitos T y por sus interacciones (ya sea de manera directa o a través de la producción de citocinas solubles) da origen a un sistema de respuesta complicado y por tanto los aspectos del sistema se revisan por separado a continuación.

Desarrollo de linfocitos T

En el timo, las células progenitoras de linfocitos T sufren diferenciación (bajo la influencia de hormonas del timo) hacia subpoblaciones de linfocitos T. Mucho se ha aprendido con respecto a este proceso en años recientes y se refiere al lector a textos especializados para detalles. Los linfocitos T se diferencian en el timo en células comprometidas que expresan receptores específicos de linfocitos T y se vuelven positivas para la expresión de moléculas correceptoras CD4 o CD8. Después de su diferenciación en el timo, los linfocitos T sufren un proceso de selección positiva y negativa que da origen a la retención no sólo de aquellas células con los receptores de antígenos más útiles, es decir, aquellos que son específicos de antígenos no propios y con restricción para moléculas MHC propias. Aquellas clonas que en potencia se dirigen a proteínas propias son eliminadas o desactivadas desde el punto de vista funcional (se tornan *anérgicas*). Una consecuencia del proceso de selección es que casi 95% de los timocitos son destruidos en el timo. Sólo una minoría de los linfocitos T en desarrollo expresan los receptores apropiados para conservarlos y para que salgan hacia la periferia donde sufrirán maduración en linfocitos T eficaces.

Proliferación y diferenciación de linfocitos T

La proliferación de linfocitos T depende de diversos eventos. Los linfocitos T indiferenciados son activados cuando se encuentran con un antígeno en las APC. Sin embargo, el antígeno solo no es suficiente. Los linfocitos T en reposo deben recibir dos señales para que ocurra la activación. Una señal proviene de los receptores de linfocitos T que interactúan con el complejo MHC-antígeno presentado en otra célula. Las moléculas de adhesión celular son importantes en la interacción entre los dos tipos celulares. El reconocimiento de antígenos desencadena un subgrupo de vías bioquímicas en la célula que dan origen a la síntesis de DNA y mitosis. Como se describió antes, las proteínas del complejo CD3 relacionadas con las cadenas de receptores de linfocitos T son fundamentales para el evento de señalización. Las proteínas CD3 transducen la señal al citoplasma lo que ocasiona la transcripción, por ejemplo de IL-2 y genes del receptor de IL-2. La liberación de IL-2 ocasiona la activación de otro linfocito T que portan receptores para IL-2. Otra **señal coestimuladora** necesaria para la activación de linfocitos T proviene de la interacción entre una molécula conocida como CD80 (B7), que se encuentra en las células presentadoras de antígenos profesionales, como los linfocitos B y los macrófagos y su receptor colaborador, CD28 en el linfocito T. Sin la segunda señal, la exposición del linfocito T al antígeno puede conducir a su desactivación funcional (anergia) o a su destrucción. Una vez que los linfocitos T indiferenciados son activados por complejos antígeno-MHC más una señal coestimuladora, secretan la citocina IL-2 y expresan receptores para dicha citocina. La proliferación de linfocitos T puede inducirse en forma autocrina. La proliferación de linfocitos T puede dar origen a la diferenciación en **células efectoras.**

Los linfocitos T se incluyen en dos categorías amplias: células que expresan CD4 y células que expresan CD8.

Los linfocitos T CD4 en proliferación pueden volverse una de dos categorías principales de los linfocitos T efectores: linfocitos TH1 o linfocitos TH2. El control de esta diferenciación radica en gran medida en las citocinas producidas por la interacción del patógeno con el sistema inmunitario no adaptativo. En un entorno de IFN-γ, los linfocitos TH1 dominan y activan a los macrófagos o causan que los linfocitos B cambien a la síntesis de IgG. En cualquier caso, esto puede favorecer la eliminación de las bacterias mediante la destrucción directa en el macrófago o por destrucción después de la fagocitosis de las partículas obstaculizadas. En un ambiente donde se produce IL-4, los linfocitos TH2 predominan y pueden activar células cebadas y eosinófilos y ocasionar que los linfocitos B sinteticen IgE. Esto colabora a la respuesta para infestación por gusanos, etcétera.

Los linfocitos T CD8 pueden activarse por completo con células efectoras activadas por la interacción con complejos MHC-antígeno en las células presentadoras de antígeno profesionales que expresan altas densidades de moléculas coestimuladoras (CD80; B7) o a través de la ayuda de linfocitos T CD4 que interactúan con el mismo antígeno en la célula que expresa sólo bajas concentraciones de moléculas o estimuladores. En este último caso, las citocinas liberadas del linfocito T auxiliador pueden ayudar a estimular las etapas finales de la activación del linfocito T CD8: 1) los linfocitos T citotóxicos expresan CD8 y reconocen péptidos extraños generados por patógenos citotóxicos como los virus, relacionados con las moléculas MHC clase I. 2) Células de TH1 que expresan CD4 y reconocen péptidos extraños generados en la vía endocítica y que se relacionan con moléculas MHC de clase II. Estas células activan macrófagos o inducen a los lin-

focitos B para que produzcan IgG, lo que permite la eliminación de bacterias infecciosas. 3) Linfocitos B TH2 que expresan CD4 y reconocen péptidos extraños generados como se mencionó antes, en asociación con moléculas MHC de clase II. Tales células activan a los linfocitos B para que secreten inmunoglobulina E y activen a las células cebadas y eosinófilos, permitiendo la eliminación de parásitos como gusanos.

Funciones de los linfocitos T

Los linfocitos T tienen funciones efectoras y reguladoras.

A. Funciones efectoras

La inmunidad celular y las reacciones de hipersensibilidad tardía son producidas principalmente contra antígenos de parásitos intracelulares, lo que incluye virus, hongos, algunos protozoarios y bacterias (p. ej., micobacterias). Una deficiencia en la inmunidad celular se manifiesta principalmente como una susceptibilidad notable a las infecciones por tales microorganismos y a ciertos tumores.

En respuesta a aloinjertos o tumores, las células positivas para CD4 pueden reconocer moléculas MHC de clase II extrañas además de antígenos específicos y son activadas. Los linfocitos T citotóxicos positivos para CD8 responden a la producción de citocinas mediante células CD4, reconocen moléculas MHC de clase I en células "extrañas" y producen la destrucción de tales células. En el caso de células infectadas por virus, los linfocitos CD8 deben reconocer tanto antígenos virales como moléculas MHC de clase I en las células infectadas.

B. Funciones reguladoras

Los linfocitos T desempeñan una función central en la regulación de la inmunidad humoral (mediada por anticuerpos) y celular. La producción de anticuerpos por linfocitos B por lo común requiere la participación de linfocitos T auxiliadores (respuesta dependiente de los linfocitos T), pero los anticuerpos contra algunos antígenos (p. ej., macromoléculas polimerizadas como polisacáridos capsulares bacterianos) son el resultado de la respuesta de linfocitos T independientes.

En la respuesta de linfocitos B dependiente de linfocitos T a los antígenos, los linfocitos B y T deben tener la misma especificidad para MHC de clase II. En tales respuestas dependientes de linfocitos T, los antígenos interactúan con IgM en la superficie de los linfocitos B. Más tarde es internalizado y procesado. Los fragmentos del antígeno regresan a la superficie de los linfocitos B en asociación con moléculas MHC de clase II. Éstos interactúan con los receptores de linfocitos T en los linfocitos T auxiliadores, lo que produce que las citocinas incrementen la división de los linfocitos B y también colaboren en la diferenciación a células plasmáticas productoras de anticuerpos, que expresan

CUADRO 8-3 Citocinas selectas importantes

Nombre	Fuente celular principal	Efectos biológicos selectos
IFN α, β	Macrófagos (IFN-α), fibroblastos (IFN-β)	Antiviral
IFN-γ	Linfocitos T, linfocitos citolíticos naturales	Activa a los macrófagos, linfocitos B, linfocitos T y linfocitos citolíticos naturales
TNF-α (factor de necrosis tumoral alfa)	Macrófagos, linfocitos T	Activación celular, fiebre, caquexia, efectos antitumorales
TNF-β (factor de necrosis tumoral beta, LT (linfotoxinas)	Linfocitos T	Activa PMN y macrófagos
IL-1 (interleucina-1)	Macrófagos	Activación celular, fiebre
IL-2 (interleucina-2)	Linfocitos T	Crecimiento y activación de linfocitos T
IL-3 (interleucina-3)	Linfocitos T	Hematopoyesis
IL-4 (interleucina-4)	Linfocitos T, células cebadas	Proliferación de linfocitos B e intercambio a IgE, diferenciación TH2
IL-5 (interleucina-5)	Linfocitos T	Diferenciación de eosinófilos, activa linfocitos B
IL-7 (interleucina-7)	Células del estroma de la médula ósea	Diferenciación de linfocitos T progenitores
IL-8 (interleucina-8)	Macrófagos, linfocitos T	Quimiotácticos para neutrófilos
IL-10 (interleucina-10)	Linfocitos T	Inhibe células dendríticas y macrófagos activados
IL-12 (interleucina-12)	Macrófagos	Diferenciación de linfocitos T, activación de linfocitos citolíticos naturales
GM-CSF (factor estimulador de las colonias de granulocitos-macrófagos)	Linfocitos T, macrófagos, monocitos	Diferenciación de células progenitoras mieloides
M-CSF (factor estimulador de las colonias de monocitos-macrófagos)	Macrófagos, monocitos, fibroblastos	Diferenciación de monocitos y macrófagos
G-CSF (factor estimulador de las colonias de granulocitos)	Fibroblastos, monocitos, macrófagos	Estimula la producción de neutrófilos en la médula ósea

inmunoglobulinas de otras clases (p. ej., IgG, IgA). De la misma forma que los linfocitos T, los linfocitos B requieren dos señales para su activación. Una señal proviene de receptores de linfocitos B para antígenos y la segunda señal coestimuladora proviene de la interacción de CD40 en los linfocitos B con CD154 (ligando CD40) en los linfocitos T auxiliadores.

En otras respuestas mediadas por células, el antígeno se procesa en las APC y los fragmentos se presentan en conjunto con moléculas MHC de clase II en la superficie de las APC. Éstas interactúan con los receptores de linfocitos T en los linfocitos T auxiliadores, lo que produce citocinas que estimulan el crecimiento de células CD4 apropiadas (linfocitos T auxiliadores). En el cuadro 8-3 y a continuación se describen brevemente las citocinas importantes.

Cuando existe desequilibrio en el número de células CD4 y CD8 activas, hay afectación general de los mecanismos de inmunidad celular. Así, en el sida se pierde la proporción normal de células CD4/CD8 (>1.5). Algunas células CD4 son destruidas por el VIH. Esto ocasiona una proporción CD4:CD8 inferior a 1, lo que conduce a susceptibilidad extrema para el desarrollo de muchas infecciones oportunistas y ciertos tumores.

CITOCINAS

Las citocinas son mediadores solubles de las respuestas de defensa del hospedador, tanto específicas como inespecíficas. Como tal, tienen una importancia fundamental en los mecanismos efectores que participan en la eliminación de antígenos extraños y de microorganismos. En el cuadro 8-3 se muestra un número pequeño de citocinas importantes.

Muchas citocinas diferentes son producidas durante la respuesta inmunitaria. La misma citocina puede ser producida por múltiples tipos celulares y tener diversos efectos en la misma célula y actuar en muchos tipos diferentes de células. Sus efectos son mediados por la unión con receptores específicos en las células efectoras. Así, las citocinas se comportan de manera similar a las hormonas, porque sus efectos son mediados a través de receptores en células efectoras que responden a los estímulos. Como puede observarse en el cuadro 8-3, las citocinas actúan con frecuencia como factores de crecimiento (al igual que otras hormonas).

HIPERSENSIBILIDAD

El término "hipersensibilidad" denota un trastorno en el cual se produce una respuesta inmunitaria exagerada o inapropiada que es nociva para el hospedador. En un individuo dado, tales reacciones por lo común ocurren después del segundo contacto con un antígeno específico (alergeno). El primer contacto es un evento preliminar necesario que induce la sensibilización al alergeno.

Hay cuatro tipos principales de reacciones de hipersensibilidad. Los tipos I, II y III son mediados por anticuerpos; el tipo IV es mediado por células.

Tipo I: hipersensibilidad inmediata (alergia)

La hipersensibilidad de tipo I se manifiesta en reacciones hísticas que ocurren segundos después que el antígeno se combina con el anticuerpo compatible. Se comporta como una anafilaxis sistémica (p. ej., después de la administración de proteínas heterólogas) o como una reacción local (p. ej., alergia atópica como en la fiebre del heno).

El mecanismo general de hipersensibilidad inmediata incluye las siguientes etapas. Un antígeno induce la formación de anticuerpos IgE, los cuales se unen firmemente con la porción Fc en un receptor en las células cebadas, basófilos y eosinófilos. Algún tiempo más tarde, un segundo contacto del individuo con el mismo antígeno produce fijación del antígeno a la IgE unida a la célula, formando enlaces cruzados entre moléculas de IgE con la liberación de mediadores con actividad farmacológica en unos cuantos segundos o minutos. Son esenciales el calcio y los nucleótidos cíclicos para la liberación de mediadores. También puede haber una segunda "fase tardía" que dura varios días e incluye la infiltración de los tejidos con leucocitos, en particular con eosinófilos.

A. Mediadores de la hipersensibilidad de tipo I

A continuación se enumeran algunos mediadores importantes y sus principales efectos.

1. Histamina. La histamina existe en estado preformado en plaquetas y gránulos de células cebadas, basófilos y eosinófilos. Su liberación causa vasodilatación, incremento de la permeabilidad capilar y contracción del músculo liso (p. ej., broncoespasmo). Los fármacos antihistamínicos pueden bloquear los receptores de histamina y son relativamente eficaces en la rinitis alérgica. La histamina es uno de los principales mediadores de las reacciones de tipo I.

2. Prostaglandinas y leucotrienos. Las prostaglandinas y leucotrienos se derivan del ácido araquidónico a través de la vía de la ciclooxigenasa. Las prostaglandinas producen principalmente broncoconstricción, en tanto que los leucotrienos causan principalmente aumento de la permeabilidad capilar.

Tales mediadores, junto con citocinas como TNF-α e IL-4, se conocen como mediadores secundarios de la reacción de tipo I.

B. Tratamiento y prevención de las reacciones anafilácticas

El tratamiento se dirige a la corrección de la acción de los mediadores, principalmente sobre las vías respiratorias, al proporcionar ventilación artificial si es necesario, y al sostén de la función cardiaca. Puede administrarse uno o más de los siguientes: adrenalina, antihistamínicos y corticoesteroides.

La prevención depende de la identificación del alergeno (a menudo con pruebas cutáneas) y más tarde con tratamiento de evitación.

C. Atopia

Los trastornos de hipersensibilidad atópica muestran una fuerte predisposición familiar y se asocian con concentraciones elevadas de IgE. La predisposición a la atopia es claramente genética, pero los síntomas se inducen con la exposición a alergenos específicos. Estos antígenos suelen ser ambientales (p. ej., alergia respiratoria a polen, ambrosía y polvo casero) o alimentos (p. ej., alergia intestinal a los mariscos). Las manifestaciones clínicas comunes incluyen fiebre del heno, asma, eccema y urticaria.

Muchos individuos con este trastorno tienen reacciones de tipo inmediato en las pruebas cutáneas (inyección, parche, raspado) que se utilizan para la exposición a los antígenos agresores.

Tipo II: hipersensibilidad

La hipersensibilidad de tipo II implica la unión de anticuerpos IgG a los antígenos que se encuentran en la superficie celular o moléculas de matriz extracelular. Los anticuerpos dirigidos contra los antígenos en la superficie celular pueden activar al complemento (u otros efectores) para dañar las células. El resultado puede ser una lisis mediada por el complemento, como ocurre en las anemias hemolíticas, reacciones transfusionales ABO y enfermedad hemolítica por grupo Rh.

Los fármacos como la penicilina pueden unirse a las proteínas de superficie en los eritrocitos e iniciar la formación de anticuerpos. Tales anticuerpos autoinmunitarios se combinan con la superficie celular, lo que da origen a hemólisis. En el síndrome de Goodpasture se forman anticuerpos contra la membrana basal del riñón y pulmón, dando origen a daño grave a las membranas a través de la actividad de leucocitos atraídos por el complemento. En algunos casos, los anticuerpos contra receptores de superficie celular alteran la función sin lesionar las células; por ejemplo, en la enfermedad de Graves un autoanticuerpo se une al receptor de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) y mediante la estimulación de la glándula ocasiona hipertiroidismo.

Tipo III: hipersensibilidad por complejo inmunitario

Cuando el anticuerpo se combina con su antígeno específico, se forman complejos inmunitarios. En condiciones normales, se elimina con rapidez, pero en ocasiones persisten y se depositan en los tejidos, dando origen a varios trastornos. En infecciones virales o microbianas persistentes, los complejos inmunitarios pueden depositarse en órganos (p. ej., riñones), ocasionando disfunción. En los trastornos autoinmunitarios, los antígenos "propios" pueden producir anticuerpos que se unen con antígenos orgánicos o que se depositan en órganos y tejidos en forma de complejos, en especial en las articulaciones (artritis), riñones (nefritis) y vasos sanguíneos (vasculitis). Por último, los antígenos ambientales como esporas de hongos y ciertos fármacos pueden causar la formación de complejos inmunitarios con la aparición de enfermedades.

En cualquier sitio donde se depositen los complejos inmunitarios, activan el sistema del complemento y atraen macrófagos y neutrófilos al sitio, donde causan inflamación y lesión hística. Hay dos formas principales de hipersensibilidad mediada por complejos inmunitarios. Una es local (**reacción de Arthus**) y por lo común se desencadena en la piel cuando se inyectan dosis bajas de antígenos y se forman complejos inmunitarios en forma local. Hay participación de los anticuerpos IgG y la activación resultante del complemento conduce a la activación de células cebadas y neutrófilos, liberación de mediadores y aumento de la permeabilidad vascular. Esto por lo común ocurre en casi 12 h. Una segunda forma de hipersensibilidad de tipo III incluye la enfermedad sistémica por complejos inmunitarios. Hay varios ejemplos, lo que incluye enfermedades como la glomerulonefritis posestreptocócica aguda.

La **glomerulonefritis posestreptocócica aguda** es una enfermedad bien conocida por complejos inmunitarios. Su inicio ocurre varias semanas después de una infección por un estreptococo hemolítico β del grupo A, en particular en la piel, y a menudo ocurre con la infección por tipos nefrógenos del estreptococo. Las concentraciones de complemento por lo común son bajas, lo que sugiere una reacción antígeno-anticuerpo con consumo de complemento. Sobre la membrana basal glomerular se observan depósitos grumosos de inmunoglobulinas y componente C3 del complemento, teñidas con técnicas de inmunofluorescencia, lo que sugiere la presencia de complejos antígeno-anticuerpo. Es probable que los complejos de antígeno estreptocócico-anticuerpo se filtren en el glomérulo, que fijen complemento y atraigan neutrófilos, lo que da origen a un proceso inflamatorio que causa daño renal.

Tipo IV: hipersensibilidad mediada por células (tardía)

La hipersensibilidad mediada por células es una función en la que no participan los anticuerpos, sino específicamente los linfocitos T sensibilizados que activan los macrófagos que causan la respuesta inflamatoria. Esta respuesta es tardía; por lo común inicia dos a tres días después del contacto con el antígeno y a menudo persiste por varios días.

A. Hipersensibilidad por contacto

La hipersensibilidad por contacto ocurre después de la sensibilización con compuestos químicos simples (p. ej., níquel, formaldehído), materiales vegetales (hiedra venenosa, roble venenoso), fármacos de aplicación tópica (p. ej., sulfonamidas, neomicina), algunos cosméticos, jabones y otras sustancias. En todos los casos, pequeñas moléculas entran a la piel y más tarde actúan como haptenos, uniéndose a proteínas corporales para actuar como antígenos completos. Se induce hipersensibilidad mediada por células, en particular en la piel. Cuando la piel nuevamente se pone en contacto con el agente agresor, la persona sensibilizada desarrolla eritema, prurito, formación de vesículas, eccema o necrosis de la piel en 12 a 48 h. Las pruebas con parches de áreas pequeñas de la piel pueden identificar en ocasiones el antígeno agresor. La evitación subsiguiente del material evita recurrencias. Es probable que las células presentadoras de antígeno en la hipersensibilidad por contacto sean células de Langerhans en la epidermis, las cuales interactúan con los linfocitos TH1 CD4 que estimulan la respuesta.

B. Hipersensibilidad del tipo tuberculina

La hipersensibilidad tardía a antígenos de microorganismos ocurre en muchas enfermedades infecciosas y se ha utilizado como un método diagnóstico. Se caracteriza por la reacción a la tuberculina. Cuando se inyecta una pequeña cantidad de tuberculina en la epidermis de un paciente previamente expuesto a *Mycobacterium tuberculosis*, hay una reacción pequeña e inmediata; sin embargo, gradualmente se desarrolla induración y eritema que alcanza su máximo en 24 a 72 h. Se acumulan células mononucleares en el tejido subcutáneo y hay abundantes linfocitos TH1 CD4. Una prueba cutánea positiva indica que la persona se ha infectado con el agente pero no implica la presencia de enfermedad actual. Sin embargo, un cambio reciente en la respuesta a la prueba cutánea de negativa a positiva sugiere infección reciente y posiblemente infección activa.

Una prueba cutánea positiva ayuda en el diagnóstico. Por ejemplo, en la lepra una prueba cutánea indica enfermedad tuberculoide, con inmunidad celular activa, en tanto que una prueba negativa sugiere lepra lepromatosa, con inmunidad celular débil.

RESPUESTAS INMUNITARIAS INADECUADAS A AGENTES INFECCIOSOS

Hay un número considerable de enfermedades de deficiencia inmunitaria heredadas que pueden afectar la respuesta del hospedador a la infección. Se remite al lector a otros libros de texto para más detalles, pero brevemente, estos defectos pueden ser consecuencia de diversos cambios en el sistema inmunitario, lo que incluye reducción de las concentraciones de anticuerpos, alteraciones de las células fagocíticas y carencia de células efectoras. Cualquiera de estos cambios puede crear una situación donde el hospedador es muy susceptible a las infecciones. Algunas de estas situaciones se mencionaron antes en este capítulo; por ejemplo, defectos como las enfermedades **granulomatosas crónicas** que reducen la actividad antibacteriana.

En algunos casos, el patógeno finalmente causa supresión inmunitaria, un ejemplo de infección con VIH que altera la inmunidad por linfocitos T y permite la infección adicional con **patógenos oportunistas**. En otras situaciones, ciertas bacterias liberan toxinas que funcionan como superantígenos, inicialmente con la estimulación de la proliferación de grandes cantidades de linfocitos T, pero por la liberación de citocinas por los linfocitos T, finalmente suprimen la respuesta inmunitaria permitiendo la multiplicación del patógeno.

El patógeno mismo puede tener mecanismos para evitar activamente la respuesta inmunitaria. Por ejemplo, varios patógenos alteran su estructura antigénica mediante mutación para evadir las defensas inmunitarias. El virus de la influenza sufre variaciones antigénicas por dos mecanismos de mutación denominados **variaciones antigénicas menores** y **variaciones antigénicas mayores**, que crea nuevos serotipos antigénicos que evaden la inmunidad del hospedador y permiten la reinfección con el virus. Otros patógenos tienen estrategias de evasión similares; por ejemplo, los tripanosomas alteran las glucoproteínas de superficie y los estreptococos alteran los carbohidratos de superficie que actúan como antígenos.

Ya se revisaron casos de otras estrategias de evitación, por ejemplo, las proteínas virales que inhiben el desarrollo de una respuesta inmunitaria eficaz. Una estrategia utilizada por unos cuantos patógenos es tornarse inactivos; por ejemplo, el virus del herpes simple se vuelve inactivo desde el punto de vista transcripcional en un estado referido como de **latencia** en ciertas células nerviosas después de la infección y puede permanecer en este estado hasta que disminuye la respuesta inmunitaria, cuando puede iniciarse un nuevo ciclo de replicación viral.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS INMUNOLÓGICAS

Las reacciones de antígenos y anticuerpos son muy específicas. Un antígeno reacciona sólo con el anticuerpo que desencadenó su producción o por un antígeno con relación estrecha. Por esta alta especificidad, las reacciones entre un antígeno y un anticuerpo pueden utilizarse para identificar la presencia de uno por medio de otro.

Las reacciones de antígeno-anticuerpo se utilizan para identificar componentes específicos en mezclas de cualquiera de éstos. Los microorganismos y otras células poseen diversos antígenos y por tanto pueden reaccionar con varios anticuerpos diferentes. Los anticuerpos monoclonales son herramientas excelentes para la identificación de antígenos porque tienen una especificidad conocida y son homogéneos. Los antisueros generados como parte de la respuesta inmunitaria contienen una mezcla compleja de anticuerpos y son heterogéneos. Esto los hace menos útiles para la realización de pruebas específicas. Las posibles reacciones cruzadas entre antígenos relacionados pueden limitar la especificidad de las pruebas.

Enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA)

Este método tiene múltiples variaciones, lo que depende de la conjugación de una enzima con un anticuerpo. La enzima se detecta por análisis de actividad enzimática con el sustrato.

Para medir los anticuerpos, se fijan antígenos conocidos a una fase sólida (p. ej., placa de microdilución), se incuban con diluciones del anticuerpo estudiado, se lavan y se vuelven a incubar con anticuerpos marcados contra la inmunoglobulina con una enzima (p. ej., peroxidasa de rábano). La actividad enzimática se mide al añadir un sustrato específico y se valora la reacción de color, que se encuentra en relación directa con la cantidad de anticuerpo unido. Este tipo de análisis se utiliza, por ejemplo, para la detección de anticuerpos contra proteínas de VIH en muestras de sangre.

Inmunofluorescencia

Los colorantes fluorescentes (p. ej., fluoresceína, rodamina) pueden unirse en forma covalente con las moléculas de anticuerpo y se hacen visibles mediante el uso de luz ultravioleta en un microscopio de fluorescencia. Tales anticuerpos marcados pueden utilizarse para identificar antígenos (p. ej., en las superficies de bacterias como estreptococos o treponemas) o en células en cortes histológicos o en otras muestras. Una reacción de **inmunofluorescencia directa** ocurre cuando un anticuerpo marcado conocido interactúa directamente con un antígeno desconocido. Una reacción de **inmunofluorescencia indirecta** ocurre cuando se utiliza un proceso de dos etapas, por ejemplo, un antígeno conocido se fija a una laminilla y se añade suero desconocido y se realiza lavado de la preparación. Si el anticuerpo sérico desconocido se fija al antígeno, permanecerá fijo en la laminilla y se detecta mediante la adición de anticuerpos contra inmunoglobulina con un marcador fluorescente o con otro reactivo específico para el anticuerpo, como proteína de estafilococo A y análisis de laminilla en microscopia con luz ultravioleta.

Otros utilizan moléculas de anticuerpos marcados con moléculas fluorescentes para contar y clasificar las células por medio de **citometría de flujo** utilizando un clasificador de células activado por fluorescencia (FACS, *fluorescence-activated cell sorter*).

La citometría de flujo analiza una suspensión unicelular que pasa a través de una serie de rayos láser para medir la cantidad relativa de luz dispersada por las partículas microscópicas (proporcionan información con respecto al tamaño relativo y presencia de gránulos) y la fluorescencia relativa de dichas partículas. Para una mezcla de leucocitos, es relativamente fácil separar las células en la mezcla en clases principales: por ejemplo, linfocitos pequeños separados de granulocitos, que son más grandes y contienen más gránulos (dispersan más luz). Con la disponibilidad de anticuerpos monoclonales (que pueden detectarse por antiinmunoglobulina fluorescente) con las proteínas de superficie celular, también es posible contar subpoblaciones de células; por ejemplo, linfocitos T auxiliadores que expresan CD4 de linfocitos T citotóxicos que expresan CD8, o células B que expresan anticuerpos de linfocitos T. Esta tecnología es ampliamente utilizada tanto en medicina clínica como en investigación biomédica, por ejemplo para cuantificar el número de linfocitos T CD4 en pacientes positivos para VIH o para diferenciar linfocitos tumorales de leucocitos normales.

Inmunotransferencia

La inmunotransferencia es un método que identifica antígenos particulares en una mezcla compleja de proteínas. Esta mezcla se somete a electroforesis en gel de poliacrilamida-dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE). Dicho método separa las proteínas con base en el tamaño molecular. El gel se cubre con una membrana (a menudo una hoja de nitrocelulosa) y las proteínas se "transfieren" por electroforesis a la membrana. La membrana de nitrocelulosa adquiere una réplica de proteínas separadas por medio de SDS-PAGE. Durante la transferencia, el dodecilsulfato sódico se elimina en gran medida de las proteínas y, al menos para unas cuantas proteínas, hay un plegamiento y su forma se restablece lo suficiente, de manera que los anticuerpos pueden reaccionar con las proteínas presentes en la membrana.

Más tarde se hace reaccionar la membrana de nitrocelulosa con un anticuerpo marcado con enzimas en una prueba directa o en una prueba indirecta, seguido de la aplicación de anticuerpos contra inmunoglobulinas marcados con enzimas. La proteína antigénica se hace visible en forma de una banda sobre la membrana. No se detecta ninguna de las proteínas restantes en la mezcla. Esta técnica se utiliza, por ejemplo, para confirmar una prueba de ELISA positiva para VIH al demostrar la presencia de anticuerpos contra proteínas específicas de VIH en el suero de un paciente.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿Cuál es la característica de la respuesta inmunitaria adaptativa que no está presente en la respuesta innata?
   (A) Barreras físicas
   (B) Barreras químicas
   (C) Expansión clonal de células efectoras
   (D) Mediadores inflamatorios
   (E) Fagocitosis
2. Los anticuerpos que se originan en el suero de un individuo inmunizado con un solo complejo antigénico que contiene muchos epitopos (determinantes antigénicos) se somete a electroforesis y más tarde a análisis estructural (secuenciación de aminoácidos, etc.). ¿Cuál de las siguientes describe mejor los anticuerpos que se producirán?
   (A) Homogeneidad en la estructura química
   (B) Monoclonal
   (C) Heterogeneidad en la estructura química
   (D) Una sola espiga en la electroforesis en gel
   (E) Una sola proteína pura
3. ¿Cómo ocurre la generación de la diversidad en la respuesta inmunitaria?
   (A) Recombinación entre grupos de segmentos génicos para generar un repertorio de moléculas de reconocimiento de antígenos
   (B) Una cantidad masiva de DNA que corresponde a los genes de las moléculas de reconocimiento de antígeno
   (C) Sólo diversificación de la línea germinativa de los genes que codifican las moléculas de reconocimiento de antígenos
   (D) Sólo diversificación somática de los genes que codifican moléculas de reconocimiento de antígenos
   (E) Una "instrucción" antigénica de un grupo pequeño de linfocitos para producir una gama infinita de moléculas de reconocimiento de antígenos
4. ¿Qué mecanismo genético incrementa el número de moléculas diferentes de anticuerpos durante la respuesta inmunitaria sin incrementar la diversidad de la acumulación de especificidades de receptores de antígenos?
   (A) Recombinación del segmento genético V
   (B) Cambio de clase
   (C) Hipermutación somática
   (D) Variabilidad de la unión por unión imprecisa V, D, J
   (E) Duplicación génica, es decir múltiples segmentos genéticos V, D y J
5. ¿Cuál es la principal función de las moléculas MHC de clases I y II?
   (A) Frustrar los esfuerzos de los cirujanos de trasplante
   (B) Fijarse a antígenos peptídicos para la presentación a receptores específicos para antígenos en los linfocitos B
   (C) Colaborar en la endocitosis de antígenos por las células fagocíticas
   (D) Unirse a antígenos de carbohidratos directamente para la presentación en los linfocitos T
   (E) Desplegar antígenos peptídicos para la revisión por receptores específicos para antígenos en los linfocitos T
6. Las moléculas MHC de clase I necesitan unirse a antígenos peptídicos para plegarse de manera apropiada y expresarse en la superficie celular. ¿Cuáles serían los problemas de salud que cabría esperar en un niño con un defecto de la función del transportador de péptidos (TAP) que se encuentra en el retículo endoplásmico?
   (A) Infecciones virales crónicas de las vías respiratorias superiores
   (B) Infecciones parasitarias
   (C) Infecciones con bacterias encapsuladas
   (D) Alergias graves a las mascotas domésticas
   (E) Enfermedades autoinmunitarias
7. La presentación de un antígeno peptídico particular en asociación con moléculas MHC de clases I y II en la superficie celular depende de
   (A) Las diferencias de especificidad intrínseca de unión de las moléculas MHC de clases I y II
   (B) Diferencias en la secuencia de aminoácidos de los antígenos peptídicos, en particular con respecto a ciertos residuos de fijación
   (C) Diferencias polimórficas entre las moléculas MHC de clases I y II
   (D) La vía inicial que toma el antígeno peptídico a través de la célula, es decir, por vesículas endocíticas o en el citoplasma
   (E) La fuente de antígenos peptídicos, es decir, las proteínas bacterianas o virales
8. Los superantígenos son toxinas peptídicas liberadas de cepas virulentas de estafilococos y estreptococos. ¿A qué entidad se unen los superantígenos a fin de desencadenar sus efectos?
   (A) Cadenas TCR γ
   (B) Cadenas TCR β y complejo de cadenas de MHC de clase II
   (C) Moléculas MHC de clase I
   (D) Antagonistas peptídicos
   (E) Sólo los receptores γ/δ de los linfocitos T
9. ¿Cuál es la clase de moléculas de anticuerpos que tienen la capacidad de cruzar la placenta?
   (A) IgG
   (B) IgA
   (C) IgM
   (D) IgE
   (E) IgD
10. Un niño de dos años de edad tiene infecciones bacterianas recurrentes con otitis media y neumonía. ¿Cuál es la deficiencia más probable?
   (A) Linfocitos T
   (B) Fagocitos
   (C) Linfocitos B

(D) Moléculas TAP-1/TAP-2
(E) Inhibidor de la esterasa C1

11. ¿Qué inicia la vía clásica de activación del complemento de manera más eficaz?
(A) IgG
(B) Glucolípidos bacterianos que contienen manosa
(C) Superficies microbianas
(D) Complejos inmunitarios IgM-antígeno
(E) Endotoxinas

12. El proceso de selección positiva y negativa en el timo genera un repertorio de linfocitos T que es tolerante a lo propio y autorrestringida. Esto significa que los linfocitos T maduros que se desarrollan tienen un repertorio de receptores que son específicos para
(A) Péptidos antigénicos no propios unidos a moléculas MHC no propias
(B) Péptidos antigénicos propios unidos a moléculas MHC propias
(C) Péptidos antigénicos propios unidos a moléculas MHC no propias
(D) Péptidos antigénicos no propios unidos a moléculas MHC propias
(E) Cualquier antígeno peptídicos unido a cualquier molécula MHC

13. ¿Cuál es la "pareja ligando-receptor" que proporciona la segunda señal crucial para la activación de los linfocitos T indiferenciados en APC en órganos linfoides secundarios?
(A) CD80 (B7)/CD28
(B) MHC de clase II/CD4
(C) MHC de clase I/CD8
(D) MHC de clase II/TCR
(E) ICAM-1/LFA-1

14. Un hombre en la tercera década de la vida acude a la sala de urgencias con disnea y fatiga. Se encuentra muy pálido. Dos días antes recibió penicilina por una infección; había recibido penicilina previamente sin problemas y comentó que no tenía "alergias a la penicilina". Las pruebas de laboratorio mostraron anticuerpos contra penicilina en el suero del paciente y hemólisis. Se diagnosticó anemia hemolítica. ¿Qué tipo de reacción de hipersensibilidad sufre este paciente?
(A) Tipo I
(B) Tipo II
(C) Tipo III
(D) Tipo IV

15. ¿Cuál de los siguientes tipos celulares expresa receptores para IgG en su superficie celular, que estimulan que la célula desencadene una respuesta para parásitos como nemátodos?
(A) Linfocitos T
(B) Linfocitos B
(C) Promonocitos
(D) Células citolíticas naturales
(E) Células cebadas

16. ¿Cuál es la prueba inmunológica más utilizada para cuantificar y recolectar células que expresan un antígeno unido a un anticuerpo monoclonal marcado con un colorante fluorescente?
(A) ELISA
(B) Inmunofluorescencia directa
(C) Prueba Western
(D) Clasificación celular activada por fluorescencia
(E) Inmunofluorescencia indirecta

17. En cualquier molécula dada de inmunoglobulina las cadenas ligeras son
(A) Idéntica una con otra, con excepción de sus determinantes antigénicos
(B) Idéntica una con otra
(C) Idéntica una con otra con excepción de sus regiones hipervariables
(D) Con secuencias de aminoácidos diferentes pero relacionadas
(E) Idéntica una con otra, con excepción de su estructura general de dominio

18. ¿En presencia de cuáles componentes del complemento se fagocitan con mayor eficacia los complejos antígeno-anticuerpo?
(A) C3a y C5a
(B) C3b
(C) Complejo C56789
(D) MBL
(E) Properdina

19. Un niño de dos años de edad acude con fiebre (38.9°C) y dolor en los oídos. Se estableció el diagnóstico de otitis media. La fiebre cedió después del tratamiento con fármacos antiinflamatorios no esteroideos. ¿Cuál es la citocina que con mayor probabilidad participó en el desarrollo de la fiebre del niño?
(A) Interleucina-1
(B) Interleucina-2
(C) Interleucina-4
(D) Interleucina-10
(E) Interleucina-12

20. ¿Cuánto tiempo requiere una respuesta inmunitaria primaria para producir concentraciones detectables de anticuerpos en suero?
(A) Inmediata
(B) 7 a 10 h
(C) 24 h
(D) Cinco a siete días
(E) 21 días

21. Las células citolíticas naturales expresan un receptor similar a inmunoglobulina que reconoce:
(A) Moléculas MHC de clase I
(B) Moléculas MHC de clase II
(C) Moléculas de adhesión celular
(D) Moléculas de glucofosfolípidos
(E) Moléculas CD40

Respuestas

1. C	7. D	13. A	19. A
2. C	8. B	14. B	20. D
3. A	9. A	15. E	21. A
4. B	10. C	16. D	
5. E	11. D	17. B	
6. A	12. D	18. B	

BIBLIOGRAFÍA

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S: *Cellular and Molecular Immunology*, 6th ed. Updated. Saunders Elsevier, 2007.
Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA: *Kuby Immunology*, 6th ed. W.H. Freeman, 2007.
Murphy K, Travers P, Wolport M: *Janeway's Immunobiology*, 7th ed. Garland Science, 2008.
Nairn R, Helbert M: *Immunology for Medical Students*, 2nd ed. Mosby/Elsevier, 2007.
Paul WE (editor): *Fundamental Immunology*, 6th ed. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2008.

CAPÍTULO 9

Patogenia de la infección bacteriana

La patogenia de la infección bacteriana comprende el comienzo del proceso infeccioso y los mecanismos que provocan la aparición de los signos y síntomas de la enfermedad. Las características de las bacterias patógenas son el potencial de ser transmisibles, su adherencia a las células del hospedador, la invasión de las células y tejidos del hospedador, su toxigenicidad y su capacidad para evadir el sistema inmunitario. Muchas infecciones producidas por bacterias que suelen considerarse patógenas permanecen ocultas o son asintomáticas. La enfermedad ocurre cuando la bacteria o las reacciones inmunitarias que se desencadenan por su presencia dañan lo suficiente a la persona.

Los términos que se utilizan con frecuencia para describir una serie de aspectos de la patogenia se definen en el glosario (véase más adelante). Véase el glosario del capítulo 8 para obtener definiciones de los términos utilizados en inmunología y para describir los aspectos relacionados con la respuesta del hospedador ante la infección.

GLOSARIO

Adherencia (adhesión, unión): Proceso por medio del cual las bacterias se unen a las superficies de las células hospedadoras. Una vez que las bacterias han penetrado en el organismo, la adherencia constituye el principal paso para el inicio del proceso de la infección. Los términos adherencia, adhesión y unión se utilizan en forma indistinta.

Infección: Multiplicación de un microorganismo infeccioso dentro del organismo. La multiplicación de las bacterias que forman parte de la flora normal del tubo digestivo, piel, etc., no suele considerarse infección; por otro lado, la multiplicación de las bacterias patógenas (p. ej., especies de *Salmonella*), incluso cuando la persona se encuentra asintomática, se considera infección.

Invasión: Proceso a través del cual las bacterias, parásitos animales, hongos y virus penetran en las células o tejidos del hospedador y se diseminan dentro del organismo.

No patógeno: Microorganismo que no causa enfermedad; algunas veces forma parte de la flora normal.

Patogenicidad: Potencial de un microorganismo infeccioso de producir una enfermedad (véase también virulencia).

Patógeno: Microorganismo que puede causar una enfermedad.

Patógeno oportunista: Microorganismo con el potencial de producir una enfermedad sólo cuando la resistencia del hospedador es deficiente (p. ej., cuando el paciente se encuentra "inmunodeprimido").

Portador: Persona o animal con una infección asintomática que puede transmitir a otra persona o animal susceptible.

Toxigenicidad: Potencial de un microorganismo de producir una toxina que contribuye a la enfermedad.

Virulencia: Potencial cuantitativo de un microorganismo de producir una enfermedad. Los microorganismos virulentos generan la enfermedad cuando un pequeño número se introduce en el organismo. La virulencia abarca adherencia, invasión y toxigenicidad (véase antes).

IDENTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS QUE CAUSAN ENFERMEDADES

Los humanos y animales poseen flora normal abundante que no suele causar enfermedades (cap. 10), sino que logra un equilibrio que garantiza la supervivencia, crecimiento y multiplicación tanto de las bacterias como del hospedador. Algunas bacterias que son causas importantes de diversas enfermedades se obtienen con el cultivo de la flora normal (p. ej., *Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus*). Algunas veces existen bacterias que son claramente patógenas (p. ej., *Salmonella typhi*), pero la infección permanece latente o subclínica y el hospedador es un "portador" de la bacteria.

Algunas veces es difícil demostrar que una especie bacteriana específica constituye la causa de determinada enfermedad. En 1884, Robert Koch propuso una serie de postulados que se han aplicado de manera extensa con el fin de vincular una serie de especies de bacterias con determinadas enfermedades. En el cuadro 9-1 se resumen los **postulados de Koch.**

Los postulados de Koch siguen siendo un pilar de la microbiología; sin embargo, desde finales del siglo XIX se ha demostrado que muchos microorganismos que no satisfacen los criterios de estos postulados también causan enfermedades. Por ejemplo, *Treponema pallidum* (sífilis) y *Mycobacterium leprae* (lepra) no se pueden cultivar *in vitro*; no obstante, existen modelos animales de infección con estos microorganismos. En otro ejemplo, para *Neisseria gonorrhoeae* (gonorrea) no existe modelo animal de infección aunque la bacteria se puede cultivar fácilmente *in vitro*; también se ha producido infección experimental en seres humanos, que sustituye al modelo animal.

En otros casos, los postulados de Koch se han cumplido cuando menos parcialmente al demostrar patogenicidad bacteriana en un modelo *in vitro* de infección en lugar de un modelo animal. Por ejemplo, algunas variedades de diarrea inducida por *Escherichia coli* (cap. 15) se han definido por la interacción del *E. coli* con las células del hospedador en cultivo.

Al investigar a determinado microorganismo como causa posible de una enfermedad, también es importante tomar en consideración las respuestas inmunitarias del hospedador. Por consiguiente, la elevación de un anticuerpo específico durante la recuperación de una enfermedad constituye un complemento importante de los postulados de Koch.

La genética microbiana moderna ha abierto fronteras nuevas para estudiar a las bacterias patógenas y distinguirlas de las apatógenas. La clonación molecular ha permitido a los investigadores aislar y modificar genes específicos de virulencia y estudiarlos con modelos de infección. Gracias al estudio de los genes vinculados con la virulencia se han propuesto los **postulados moleculares de Koch**. Estos postulados se resumen en el cuadro 9-1.

Algunos microorganismos patógenos son difíciles o imposibles de cultivar y por esta razón no es posible establecer la causa de la enfermedad que generan por medio de los postulados de Koch o los postulados moleculares de Koch. La reacción en cadena de la polimerasa se utiliza para amplificar las secuencias de ácidos nucleicos específicas para cada microorganismo a partir de los tejidos o líquidos del hospedador. Estas secuencias se utilizan para identificar a los microorganismos causales. En el cuadro 9-1 se enumeran los postulados moleculares para establecer la causa de una enfermedad microbiana.

CUADRO 9-1. Principios para establecer las causas de las infecciones

Postulados de Koch	Postulados moleculares de Koch	Postulados moleculares para establecer la causa microbiana de una enfermedad
1. El microorganismo se debe encontrar en todos los casos de la enfermedad en cuestión y su distribución en el organismo debe concordar con las lesiones observadas 2. El microorganismo se debe cultivar *in vitro* (o fuera del cuerpo del hospedador) durante varias generaciones 3. Cuando este tipo de cultivo puro se inocula en un animal susceptible, debe causar la enfermedad típica 4. El microorganismo se debe aislar de nuevo a partir de las lesiones de las enfermedades producidas en forma experimental	1. El fenotipo o propiedad investigada debe tener una relación estrecha con las cepas patógenas de la especie y no con las cepas no patógenas 2. La inactivación específica del gen o genes vinculados con el rasgo de virulencia sospechado debe provocar una reducción medible de la patogenicidad o virulencia 3. La inversión o sustitución del gen mutado con un gen natural debe restablecer la patogenicidad o virulencia	1. En la mayoría de los casos de una infección debe existir una secuencia de ácidos nucleicos del supuesto microorganismo patógeno y de preferencia en los sitios anatómicos donde son evidentes los datos patológicos 2. La secuencia de ácidos nucleicos del supuesto microorganismo patógeno debe estar ausente en la mayoría de los controles sanos. Si se identifica la secuencia en controles sanos, su prevalencia debe ser menor que en los pacientes con la infección y con un menor número de copias 3. El número de copias de la secuencia de ácido nucleico del supuesto microorganismo patógeno debe disminuir o ser indetectable una vez que se resuelve la enfermedad (p. ej., con tratamiento efectivo) y debe aumentar cuando la infección recurre o se produce una recaída 4. La presencia de una secuencia de ácidos nucleicos vinculada a un microorganismo patógeno en personas sanas debe ayudar a pronosticar la aparición ulterior de la enfermedad 5. La naturaleza del microorganismo patógeno inferida a partir del análisis de la secuencia de ácidos nucleicos debe concordar con las características biológicas conocidas de otros microorganismos afines y con la naturaleza de la enfermedad. La importancia de una secuencia microbiana detectada aumenta cuando el genotipo microbiano pronostica la morfología microbiana, patología, características clínicas de la enfermedad y respuesta del hospedador

Este método se ha utilizado para establecer la causa de diversas enfermedades como la enfermedad de Whipple (*Tropheryma whipplei*), angiomatosis bacilar (*Bartonella henselae*), ehrlichiosis monocítica humana (*Ehrlichia chaffeensis*), síndrome pulmonar por hantavirus (virus Sin Nombre) y sarcoma de Kaposi (herpesvirus humano 8).

El análisis de la infección y la enfermedad aplicando una serie de normas como los postulados de Koch permite clasificar a las bacterias en patógenas, patógenas oportunistas o apatógenas. Algunas especies de bacterias siempre se consideran patógenas y su presencia es anormal; dos ejemplos son *Mycobacterium tuberculosis* (tuberculosis) y *Yersinia pestis* (peste). Estas bacterias satisfacen fácilmente los postulados de Koch. Otras especies forman parte de la flora normal de los seres humanos (y animales) pero a menudo también pueden causar enfermedades. Por ejemplo, *E. coli* forma parte de la flora digestiva de los seres humanos sanos, pero también constituye una causa frecuente de las infecciones urinarias, diarrea del viajero y otras enfermedades. Las cepas de *E. coli* que causan enfermedades se distinguen de las que no lo hacen al establecer 1) si son virulentas en modelos animales o modelos de infección *in vitro* y 2) si tienen una composición genética ligada a la generación de enfermedades. Otras bacterias (p. ej., especies de *Pseudomonas, Stenotrophomonas maltophilia* y muchas levaduras y mohos) sólo causan enfermedad en personas inmunodeprimidas y débiles, por lo que son **patógenos oportunistas**.

TRANSMISIÓN DE LA INFECCIÓN

Las bacterias (y otros microorganismos) se adaptan al medio ambiente, incluidos los animales y los seres humanos, donde normalmente viven y subsisten. Al hacerlo, las bacterias aseguran su supervivencia y aumentan la probabilidad de transmisión. Al producir una infección asintomática o enfermedad leve, en lugar de la muerte del hospedador, los microorganismos que habitan normalmente en las personas aumentan la probabilidad de transmisión de una persona a otra.

Algunas bacterias que con frecuencia causan enfermedades en los seres humanos, existen principalmente en animales e infectan de manera incidental al ser humano. Por ejemplo, algunas especies de *Salmonella* y *Campylobacter* infectan a los animales y son transmitidas en productos alimenticios al ser humano. Otras bacterias generan infecciones en los seres humanos de una manera involuntaria, un error en el ciclo vital normal del microorganismo; éstos no se han adaptado a las personas y la enfermedad que generan en ocasiones es grave. Por ejemplo, *Y. pestis* (peste) tiene un ciclo vital bien establecido en los roedores y pulgas de roedores y su transmisión a través de las pulgas a los seres humanos es involuntaria; *Bacillus anthracis* (carbunco) vive en el medio ambiente, en ocasiones infecta a los animales y es transmitido a los seres humanos a través de ciertos productos como pelo natural de animales infectados. Las especies de *Clostridium* se encuentran en el medio ambiente y se transmiten al ser humano a través de su ingestión (p. ej., gastroenteritis por *C. perfringens* y *C. botulinum* [botulismo]) o cuando las heridas se contaminan con tierra (p. ej., *C. perfringens* [gangrena gaseosa] y *C. tetani* [tétanos]).

Las manifestaciones clínicas de las enfermedades (p. ej., diarrea, tos, secreción genital) producidas por los microorganismos, a menudo facilitan su transmisión. Algunos ejemplos de síndromes clínicos y la manera como facilitan la transmisión de la bacteria causal son los siguientes: *Vibrio cholerae* provoca diarrea abundante que contamina el agua salada y el agua dulce; el agua potable o los mariscos como ostiones y cangrejos se contaminan; al consumir agua o mariscos contaminados la persona se infecta y enferma. Asimismo, la contaminación de los productos alimenticios con aguas residuales que contienen *E. coli* que provoca diarrea, tiene como resultado la transmisión de las bacterias. *M. tuberculosis* (tuberculosis) infecta de manera natural sólo al ser humano; causa una enfermedad respiratoria con tos y producción de aerosoles, lo que provoca la transmisión de la bacteria de persona a persona.

Muchas bacterias se transmiten de persona a persona a través de las manos. El individuo con *S. aureus* en las narinas se frota la nariz, recoge los estafilococos en las manos y disemina las bacterias hacia otras partes del cuerpo o a otra persona, donde genera una infección. Muchos microorganismos patógenos oportunistas que causan infecciones hospitalarias son transmitidos de un paciente a otro a través de las manos del personal que trabaja en el hospital. Por lo tanto, el hecho de lavarse las manos constituye un componente importante en el control de infecciones.

Las **vías de entrada de bacterias patógenas** al cuerpo que son más frecuentes son los sitios donde las mucosas se unen con la piel: aparato respiratorio (vías respiratorias superiores e inferiores), tubo digestivo (principalmente la boca), aparato genital y urinario. Las áreas anormales de mucosas y piel (p. ej., laceraciones, quemaduras y otras lesiones) también constituyen sitios frecuentes de entrada. La piel y mucosas íntegras proporcionan la defensa principal contra la infección. Para producir una enfermedad, los microorganismos patógenos deben vencer estas barreras.

PROCESO INFECCIOSO

Una vez dentro del cuerpo, las bacterias se deben unir o adherir a las células hospedadoras, casi siempre las epiteliales. Una vez que las bacterias han establecido un sitio primario de infección, se multiplican y diseminan directamente a través de los tejidos o por el sistema linfático hasta el torrente sanguíneo. Esta infección (bacteriemia) puede ser transitoria o persistente. La bacteriemia permite la diseminación de las bacterias en el organismo hasta llegar a los tejidos que son especialmente adecuados para su multiplicación.

Un ejemplo del proceso infeccioso es la neumonía neumocócica. Es posible aislar *S. pneumoniae* a partir de la nasofaringe de 5 a 40% de las personas sanas. En ocasiones se aspiran neumococos desde la nasofaringe hacia los pulmones; esta aspiración es más frecuente en individuos debilitados y en determinadas circunstancias como el coma, cuando los reflejos normales del vómito y la tos se encuentran atenuados. La infección empieza en los espacios aéreos terminales de los pulmones en las personas que carecen de anticuerpos protectores contra el polisacárido capsular del neumococo. La multiplicación de los neumococos con la inflamación resultante genera neumonía. Los neumococos penetran en los linfáticos de los pulmones y de ahí pasan al torrente sanguíneo. Entre 10 y 20% de las personas con neumonía neumocócica manifiesta bacteriemia en el momento en el que se establece el diagnóstico. Una vez que aparece bacteriemia, los neumococos se diseminan hacia otros puntos

secundarios de infección (p. ej., líquido cefalorraquídeo, válvulas cardiacas, espacios articulares). Las principales complicaciones de la neumonía neumocócica son meningitis, endocarditis y artritis séptica.

En el cólera, el proceso infeccioso comprende la ingestión de *V. cholerae,* la quimiotaxis de la bacteria hacia el epitelio intestinal, su movilidad por medio de un solo flagelo polar y su penetración en la capa mucosa de la superficie intestinal. La adherencia de *V. cholerae* a las células epiteliales es gobernada por fimbrias y quizá otras adhesinas. La producción de la toxina del cólera provoca la salida de cloruro y agua hacia la luz intestinal, lo que genera diarrea y desequilibrio electrolítico.

GENÓMICA Y PATOGENICIDAD BACTERIANA

Las bacterias son haploides (cap. 7) y tienen interacciones genéticas limitadas que pueden cambiar sus cromosomas y posiblemente modificar su adaptación y supervivencia a determinados entornos ambientales.

Naturaleza clonal de las bacterias patógenas

Un resultado importante de la conservación de los genes cromosómicos en las bacterias es que son clonales. La mayor parte de los microorganismos patógenos tiene unos cuantos tipos clonales diseminados en el mundo durante determinado periodo. Por ejemplo, la meningitis meningocócica epidémica del serogrupo A existe en Asia, Medio Oriente y África y en ocasiones se extiende hasta el norte de Europa y América. En diversas ocasiones, a lo largo de varias décadas, se ha observado un solo tipo clonal de *Neisseria meningitidis* serogrupo A en un área geográfica que se extiende posteriormente hacia otras y de esta manera genera una epidemia. Existen varios tipos de *Haemophilus influenzae*, pero sólo *H. influenzae* clonal tipo b es patógeno. Por el contrario, existen dos tipos clonales de *Bordetella pertussis* y ambos son patógenos. Asimismo, *S. typhi* (fiebre tifoidea) de los pacientes es de dos tipos clonales. Sin embargo, existen mecanismos que las bacterias utilizan o han utilizado durante largo tiempo en el pasado, para transmitir genes de virulencia de una a otra.

Elementos genéticos móviles

Un mecanismo primordial para el intercambio de información genética entre las bacterias es la transferencia de elementos genéticos móviles extracromosómicos: plásmidos o fagos. Los genes que codifican diversos factores de virulencia bacteriana suelen ubicarse en los plásmidos o son transportados por fagos. La transferencia de estos elementos genéticos móviles entre miembros de una especie o, con menos frecuencia, entre diversas especies, provoca la transferencia de factores de virulencia. Algunas veces los elementos genéticos forman parte de un DNA muy móvil (transposones; cap. 7) y hay recombinación entre el DNA extracromosómico y el cromosoma (recombinación ilegítima o no homóloga; cap. 7). Ante esta recombinación, los genes que codifican los factores de virulencia se tornan cromosómicos. En el cuadro 9-2 se muestran algunos ejemplos de factores de virulencia codificados por plásmidos y fagos.

Islotes de patogenicidad

Los islotes de patogenicidad (PAI, *pathogenicity islands*) son grandes grupos de genes relacionados con la patogenicidad que se ubican en el cromosoma bacteriano. Son grandes grupos de genes organizados, por lo general de 10 a 200 kb. Las principales propiedades de los PAI son las siguientes: poseen uno o más genes de virulencia; aparecen en el genoma de los miembros patógenos de una especie mas no en los miembros apatógenos; son grandes; tienen un contenido de guanina más citosina (G + C) distinto al resto del genoma bacteriano; suelen estar vinculados con genes de tRNA; a menudo se les encuentra con partes del genoma ligado a elementos genéticos móviles; con frecuencia poseen inestabilidad genética; y usualmente representan estructuras de mosaico con componentes adquiridos en distintos momentos. En conjunto, las propiedades de los PAI sugieren que se originan a partir de la transferencia genética de una especie ajena. En el cuadro 9-3 se presentan algunos ejemplos de factores de virulencia de PAI.

REGULACIÓN DE LOS FACTORES DE VIRULENCIA BACTERIANA

Las bacterias patógenas (y otros microorganismos patógenos) se han adaptado a una vida saprófita o libre, quizás a ciertos ambientes fuera del organismo y al hospedador humano. Durante su proceso de adaptación, los microorganismos patógenos eco-

CUADRO 9-2 Ejemplos de factores de virulencia codificados por los genes en elementos genéticos móviles

Género/especie	Factor de virulencia y enfermedad
Codificados por plásmidos	
Escherichia coli	Enterotoxinas termolábiles y termoestables que causan diarrea
Escherichia coli	Hemolisina (citotoxina) de enfermedades invasoras e infecciones urinarias
Escherichia coli y especies de *Shigella*	Factores de adherencia y productos genéticos que participan en la invasión de la mucosa
Bacillus anthracis	Cápsula indispensable para la virulencia (en un plásmido)
	Factor de edema, factor letal, antígeno protector, todos indispensables para la virulencia (en otro plásmido)
Codificados por fagos	
Clostridium botulinum	Toxina de botulismo que causa parálisis
Corynebacterium diphtheriae	Toxina diftérica que inhibe la síntesis de proteínas humanas
Vibrio cholerae	Tóxina del cólera que causa diarrea líquida abundante

CUADRO 9-3 Algunos ejemplos del gran número de islotes de patogenicidad de los microorganismos patógenos para el ser humano

Género/especie	Nombre PAI	Características de virulencia
Escherichia coli	PAI 1_{536}	Hemolisina alfa, fimbrias, adherencias, en infecciones urinarias
Escherichia coli	PAI 1_{J96}	Hemolisina alfa, fimbrias P en infecciones urinarias
Escherichia coli (EHEC)	O1#7	Toxinas de macrófagos de *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC)
Salmonella typhimurium	SPI-1	Invasión y daño de las células hospedadoras; diarrea
Yersinia pestis	HPI/pgm	Genes que aumentan la captación de hierro
Vibrio cholerae El TorO1	VPI-1	Neuraminidasa, utilización de aminoazúcares
Staphylococcus aureus	SCC mec	Resistencia a la meticilina y otros antibióticos
Staphylococcus aureus	SaPI1	Toxina 1 del síndrome de choque tóxico, enterotoxinas
Enterococcus faecalis	NP^{m}	Citolisina, formación de biopelícula

nomizan sus necesidades y productos metabólicos. Han creado sistemas complejos de transducción de señales para regular los genes que son importantes para la virulencia. Con frecuencia una serie de señales ambientales regula la expresión de los genes de virulencia. Algunas de las señales más frecuentes son la temperatura, la disponibilidad de hierro, la osmolalidad, la fase del desarrollo, el pH y determinados iones (p. ej., Ca^{2+}) o nutrientes. En los párrafos siguientes se muestran algunos ejemplos.

El gen de la toxina diftérica de *Corynebacterium diphtheriae* es transportado en bacteriófagos moderados. La producción de toxina aumenta cuando *C. diphtheriae* se cultiva en un medio con poco hierro.

La expresión de los genes de virulencia de *B. pertussis* aumenta cuando la bacteria se cultiva a 37°C y se suprime cuando se cultiva a una temperatura menor o en presencia de una concentración elevada de sulfato de magnesio o ácido nicotínico.

Los factores de virulencia de *V. cholerae* son regulados a múltiples niveles y por numerosos factores ambientales. La expresión de la toxina del cólera es mayor a un pH de 6.0 que a uno de 8.5 y también es mayor a una temperatura de 30°C que a 37°C.

También son importantes la osmolalidad y composición de aminoácidos. Existen hasta 20 genes adicionales de *V. cholerae* que son regulados en forma similar.

Y. pestis produce una serie de proteínas codificadas por plásmidos de virulencia. Una de éstas es una proteína capsular antifagocítica fracción 1 que genera la función antifagocítica. La expresión de esta proteína es mayor entre 35 y 37°C, la temperatura del hospedador, y menor entre 20 y 28°C, que es la temperatura de la pulga, en la que no se necesita actividad antifagocítica. La regulación de otros factores de virulencia en las especies de *Yersinia* también está influida por factores ambientales.

La movilidad de las bacterias les permite diseminarse y multiplicarse en sus entornos ambientales o en los pacientes. *Yersinia enterocolitica* y *Listeria monocytogenes* son frecuentes en el ambiente, donde la movilidad es importante para ellas. Supuestamente, la motilidad no es importante en la patogenia de las enfermedades causadas por estas bacterias. *Yersinia enterocolitica* es móvil cuando se cultiva a 25°C, mas no a 37°C. De igual forma, *Listeria* es móvil cuando se cultiva a 25°C pero prácticamente es inmóvil a 37°C.

FACTORES DE VIRULENCIA BACTERIANA

Muchos factores determinan la virulencia bacteriana o el potencial de las bacterias para causar infecciones y enfermedades.

Factores de adherencia

Una vez que la bacteria penetra en el cuerpo del hospedador, se debe adherir a las células de una superficie hística. Si no se adhiere, es eliminada por el moco y otros líquidos que bañan las superficies de los tejidos. Después de la adherencia, que constituye únicamente un paso en el proceso infeccioso, se forman microcolonias y se llevan a cabo los pasos ulteriores en la patogenia de la infección.

Las interacciones entre las bacterias y las superficies celulares de los tejidos durante la adherencia son complejas. Numerosos factores participan: hidrofobia de la superficie y carga neta de la superficie, moléculas de unión (ligandos) en las bacterias e interacciones con los receptores celulares del hospedador. Con frecuencia las bacterias y células hospedadoras poseen una carga neta negativa en la superficie y, por lo tanto, repelen las fuerzas electrostáticas. Estas fuerzas son vencidas por acciones hidrófobas y otras interacciones más específicas entre la bacteria y la célula hospedadora. En general, entre más hidrófoba sea la superficie de la célula bacteriana, mayor es su adherencia a la célula hospedadora. Las propiedades hidrófobas de la superficie y el potencial para adherirse a las células hospedadoras varían en las diversas cepas de bacterias de una sola especie.

Asimismo las bacterias poseen moléculas específicas de superficie que interactúan con las células hospedadoras. Muchas bacterias poseen **pilosidades**, apéndices similares a pelos que se extienden desde la superficie celular bacteriana y ayudan a regular la adherencia de la bacteria a la superficie celular hospedadora. Por ejemplo, algunas cepas de *E. coli* tienen fimbrias tipo 1, que se adhieren a los receptores de las células epiteliales; esta adherencia se puede bloquear *in vitro* agregando D-manosa

al medio. Las cepas de *E. coli* que causan infecciones urinarias casi siempre carecen de adherencia gobernada por D-manosa, pero tienen pilosidades P, que se adhieren a una porción del antígeno P del grupo sanguíneo; la estructura mínima de reconocimiento es el disacárido α-D-galactopiranosil-(1-4)-β-D-galactopiranósido (adhesión de enlace GAL-GAL). La cepa de *E. coli* que causa diarrea (cap. 15) posee adherencia regulada por pilosidades a las células epiteliales intestinales, aunque las pilosidades y los mecanismos moleculares de adherencia difieren según el tipo de *E. coli* que induce la diarrea.

Existen otros mecanismos específicos entre ligando y receptor que han evolucionado para facilitar la adherencia bacteriana a las células hospedadoras, ilustrando los diversos mecanismos que utilizan las bacterias. El estreptococo del grupo A (*Streptococcus pyogenes*) (cap. 14) también posee apéndices similares a pelos llamados fimbrias que se extienden desde la superficie celular. Las fimbrias contienen **ácido lipoteicoico**, proteína F y proteína M. El ácido lipoteicoico y la proteína F inducen la adherencia del estreptococo a las células epiteliales bucales; esta adherencia es intermediada por la fibronectina, que actúa como molécula receptora en la célula del hospedador. La proteína M actúa como molécula antifagocítica y constituye unos de los principales factores de virulencia.

Los anticuerpos que actúan contra determinados ligandos bacterianos y fomentan la adherencia (p. ej., pilosidades y ácido lipoteicoico) en ocasiones bloquean la adherencia a las células hospedadoras y protegen al hospedador contra la infección.

Invasión de las células y tejidos del hospedador

Para muchas bacterias patógenas es indispensable invadir el epitelio del hospedador para generar una infección. Algunas bacterias (p. ej., especies de *Salmonella*) invaden los tejidos a través de las uniones entre las células epiteliales. Otras bacterias (p. ej., especies de *Yersinia, N. gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis*) invaden ciertos tipos de células epiteliales del hospedador y posteriormente penetran en los tejidos. Una vez dentro de la célula hospedadora, la bacteria permanece encerrada en una vacuola formada por la membrana de la célula hospedadora o bien la membrana de la vacuola se disuelve y la bacteria se dispersa en el citoplasma. Algunas bacterias (p. ej., especies de *Shigella*) se multiplican dentro de las células hospedadoras y otras no lo hacen.

Por lo general se utiliza el término “invasión” para describir el ingreso de bacterias a las células hospedadoras, lo que implica una participación activa por parte de los microorganismos y una participación pasiva de las células del hospedador. En numerosas infecciones, las bacterias producen factores de virulencia que repercuten en las células hospedadoras, obligándolas a absorber (ingerir) a la bacteria. Las células hospedadoras participan activamente en este proceso.

Por lo general, la producción de toxinas y otras propiedades de virulencia son independientes de la capacidad que tiene la bacteria para invadir las células y tejidos. Por ejemplo, *C. diphtheriae* puede invadir el epitelio de la nasofaringe generando una faringitis asintomática aunque las cepas del microorganismo no sean toxígenas.

Los estudios *in vitro* con células de tejidos en cultivos han ayudado a clasificar los mecanismos de la invasión para algunos microorganismos patógenos; sin embargo, los modelos *in vitro* no necesariamente ofrecen una visión completa del proceso de la invasión. Para comprender en forma integral este proceso, tal y como sucede en las infecciones que se adquieren en forma natural, es necesario estudiar mutantes producidos por ingeniería genética y su potencial para infectar animales y seres humanos susceptibles. Por consiguiente, para conocer la invasión bacteriana de la célula eucariota es necesario observar gran parte de los postulados de Koch y los postulados moleculares de Koch. A continuación se proporcionaran algunos ejemplos de invasión bacteriana de células hospedadoras como parte del proceso infeccioso.

Las especies de *Shigella* se adhieren a las células hospedadoras *in vitro*. Por lo general se utilizan células HeLa; estas células no polarizadas e indiferenciadas se obtuvieron de un carcinoma cervical. La adherencia provoca polimerización de actina en la porción cercana de la célula HeLa, lo que induce la formación de seudópodos en las células y absorción de la bacteria. La adherencia e invasión son intermediadas cuando menos parcialmente por productos de los genes ubicados en un gran plásmido común para numerosas shigellas. Existen diversas proteínas, incluidos los **antígenos del plásmido de invasión** (IpA-D, *invasion plasmid antigens*) que contribuyen al proceso. Una vez dentro de las células HeLa, la shigella es liberada o escapa de la vesícula fagocítica y se multiplica en el citoplasma. La polimerización de actina impulsa a la shigella dentro de la célula HeLa y de una célula a otra. *In vivo*, las shigellas se adhieren a las integrinas situadas en la superficie de las células M de las placas de Peyer y no a las células polarizadas de absorción de la mucosa. Las células M normalmente prueban antígenos y los presentan a los macrófagos en la submucosa. Las shigellas son fagocitadas por las células M y atraviesan a estas células hacia el conglomerado subyacente de macrófagos. Las shigellas dentro de las células M y los macrófagos provocan la muerte de estas células al activar el proceso normal de muerte celular (apoptosis). Las shigellas se extienden hacia las células adyacentes de la mucosa de manera similar al modelo *in vitro*, por medio de polimerización de la actina, que impulsa a las bacterias.

Según estudios que utilizan células *in vitro*, el proceso de adherencia-invasión de *Y. enterocolitica* es similar al de *Shigella. Yersinia* se adhiere a la membrana celular hospedadora y provoca la formación de proyecciones protoplasmáticas. A continuación las bacterias son absorbidas por la célula hospedadora con formación de vacuolas. La invasión es mayor cuando las bacterias se cultivan a 22°C en vez de a 37°C. Una vez que *Yersinia* ha penetrado en la célula, la membrana vacuolar se disuelve y las bacterias son liberadas hacia el citoplasma. *In vivo*, se cree que *Yersinia* se adhiere a las células M de las placas de Peyer y las invade, en lugar de utilizar a las células de absorción de la mucosa, muy similar a *Shigella*.

L. monocytogenes del medio ambiente se ingiere en los alimentos. Supuestamente, la bacteria se adhiere a la mucosa intestinal y la invade, llega hasta el torrente sanguíneo y se disemina. La patogenia de este proceso se ha estudiado *in vitro*. *L. monocytogenes* se adhiere y fácilmente invade a los macrófagos y células intestinales indiferenciadas cultivadas. A continuación estimulan a las células hospedadoras para que las absorban. En este proceso tiene una participación central una proteína llamada **internalina**. El proceso de absorción, que es el desplazamiento hacia el interior de una célula y el desplazamiento entre células, requiere la polimerización de actina para impulsar a las bacterias, como sucede con *Shigella*.

Legionella pneumophila infecta a los macrófagos pulmonares generando neumonía. La adherencia de *Legionella* a los macrófagos induce la formación de un seudópodo largo y delgado que se

enrosca alrededor de la bacteria formando una vesícula (**fagocitosis en espiral**). La vesícula permanece intacta, se inhibe la fusión fagolisosómica y la bacteria se multiplica dentro de la vesícula.

N. gonorrhoeae utiliza fimbrias como adhesinas principales y **proteínas asociadas a la opacidad (Opa** , *opacity associated proteins*) como adhesinas secundarias a las células hospedadoras. Algunas proteínas Opa intermedian la adherencia a los polimorfonucleares. En ocasiones el gonococo sobrevive después de ser fagocitado por estas células. Las fimbrias y las Opa en conjunto fomentan la invasión de las células cultivadas *in vitro*. En cultivos de salpinge, el gonococo se adhiere a las microvellosidades de las células no ciliadas y al parecer induce su fagocitosis por estas células. El gonococo se multiplica dentro de la célula y emigra hacia el espacio subepitelial por un mecanismo desconocido.

Toxinas

Por lo general, las toxinas que producen las bacterias se clasifican en dos grupos: toxinas extracelulares, a menudo llamadas exotoxinas y endotoxinas. En el cuadro 9-4 aparecen las características principales de ambos grupos.

A. Exotoxinas

Muchas bacterias tanto grampositivas como gramnegativas producen exotoxinas que tienen gran importancia médica. Algunas de estas toxinas han tenido una participación muy importante en la historia mundial. Por ejemplo, el tétanos causado por la toxina de *C. tetani* mató aproximadamente a 50 000 soldados de la Potencias del Eje (*Axis powers*) en la Segunda Guerra Mundial; sin embargo, las fuerzas aliadas vacunaron a sus soldados contra el tétanos y muy pocos murieron por esta enfermedad. Se han creado vacunas contra algunas enfermedades mediadas por exotoxinas y siguen siendo importantes en la prevención de la enfermedad. Estas vacunas, llamadas **toxoides**, se elaboran a base de exotoxinas, que se modifican para que ya no sean tóxicas. Muchas exotoxinas constan de subunidades A y B. Por lo general su subunidad B intermedia la adherencia del complejo de toxina a una célula hospedadora y ayuda a que la exotoxina penetre en la célula hospedadora. La subunidad A proporciona actividad tóxica. A continuación se ofrecen algunos ejemplos de los mecanismos patógenos ligados a las exotoxinas. En los capítulos que tratan sobre estas bacterias se describen otras toxinas bacterianas.

C. diphtheriae es un bacilo grampositivo que se reproduce en las mucosas del aparato respiratorio superior o en heridas cutáneas menores (cap. 12). Las cepas de *C. diphtheriae* que llevan un bacteriófago modificado con un gen estructural para la toxina son toxígenas y producen **toxina diftérica** que provoca **difteria**. Los factores que regulan la producción de la toxina son numerosos; cuando la disponibilidad de hierro inorgánico constituye el factor que limita la velocidad de proliferación, entonces se produce la máxima cantidad de toxina. La molécula de toxina es secretada como polipéptido único (PM 62 000). Esta toxina natural sufre degradación enzimática para formar dos fragmentos, A y B, unidos por un puente disulfuro. El fragmento B (PM 40 700) se une a ciertos receptores de la célula hospedadora y facilita la penetración del fragmento A (PM 21 150) hacia el citoplasma. El fragmento A inhibe al factor EF-2 de alargamiento de la cadena de polipéptidos catalizando una reacción que libera nicotinamida libre y un complejo inactivo de difosfato de adenosina-ribosa-EF-2. La interrupción de la síntesis de proteínas altera las funciones fisiológicas celulares normales. La toxina diftérica es muy potente.

C. tetani es un bacilo anaerobio grampositivo que causa tétanos (cap. 11). *C. tetani* del medio ambiente contamina las heridas

CUADRO 9-4 Características de las exotoxinas y endotoxinas (lipopolisacáridos)

Exotoxinas	Endotoxinas
Excretadas por células vivas; concentración elevada en medio líquido	Forman parte integral de la pared celular de las bacterias gramnegativas. Liberadas cuando la bacteria muere y en parte durante el crecimiento. No siempre es necesaria su liberación para que posean actividad biológica
Producidas por bacterias grampositivas y gramnegativas	Se encuentran únicamente en bacterias gramnegativas
Polipéptidos con un peso molecular de 10 000 a 900 000	Complejos de lipopolisacáridos. Quizá la porción del lípido A es la encargada de los efectos nocivos
Relativamente inestable; sus efectos nocivos suelen destruirse rápidamente calentándolas a más de 60°C	Relativamente estable; soportan el calor por arriba de 60°C durante varias horas sin perder su toxicidad
Muy antigénicas; estimulan la formación de una concentración abundante de antitoxina. La antitoxina neutraliza a la toxina	Débilmente inmunógenas; los anticuerpos son antitóxicos y protectores. La relación existente entre la concentración de anticuerpos y la protección contra la enfermedad es menos clara que con las exotoxinas
Se convierte en toxoide antigénico y no tóxico con formalina, ácido, calor, etc. Los toxoides se utilizan para vacunar (p. ej., toxoide tetánico)	No se convierten en toxoides
Altamente tóxica; mortales para animales en microgramos o menos	Moderadamente tóxicas; mortales para animales en decenas a cientos de microgramos
Por lo general se unen con receptores específicos en las células	No existen receptores específicos en las células
Por lo general no causan fiebre en el hospedador	Por lo general causan fiebre en el hospedador a causa de la liberación de interleucina-1 y otros mediadores
Con frecuencia reguladas por genes extracromosómicos (p. ej., plásmidos)	La síntesis es gobernada por genes cromosómicos

y sus esporas germinan en el medio anaerobio del tejido desvitalizado. Con frecuencia la infección es leve y no tiene manifestaciones clínicas. Las formas vegetativas de *C. tetani* producen la toxina **tetanoespasmina** (PM 150 000) que es fragmentada por una proteasa bacteriana hasta formar dos péptidos (PM 50 000 y PM 100 000) unidos por un puente disulfuro. Al principio la toxina se fija a receptores en las membranas presinápticas de las neuronas motoras. A continuación emigra por el sistema de transporte axonal retrógrado hasta los cuerpos celulares de estas neuronas y hasta la médula espinal y tronco cerebral. La toxina se difunde hasta las terminales de las células inhibidoras incluidas interneuronas glicinérgicas y neuronas secretoras de ácido γ-aminobutírico del tronco cerebral. La toxina degrada a la sinaptobrevina, proteína necesaria para el acoplamiento de las vesículas neurotransmisoras en la membrana presináptica. Se bloquea la liberación de la glicina inhibidora y ácido γ-aminobutírico y las neuronas motoras no se inhiben. El resultado es una parálisis espástica. Incluso una cantidad sumamente pequeña de toxina es mortal para el humano. El tétanos se puede prevenir en las personas con una inmunidad normal vacunándolas con toxoide tetánico.

C. botulinum causa botulismo. Se encuentra en la tierra o agua y en ocasiones prolifera en los alimentos (enlatados, empacados al vacío, etc.) si el ambiente tiene condiciones anaerobias adecuadas. Produce una toxina sumamente potente (la más potente que se conoce). Es termolábil y por lo tanto se destruye con calor suficiente. Existen varios tipos serológicos de toxinas. Los que con mayor frecuencia causan enfermedad en el ser humano son los tipos A, B y E. La toxina es muy similar a la toxina tetánica, con una proteína con un peso molecular de 150 000 que se fragmenta hasta formar una proteína con un peso molecular de 100 000 y otra con peso molecular de 50 000 unidas por un puente disulfuro. La toxina botulínica es absorbida en el intestino y se adhiere a los receptores de las membranas presinápticas de las neuronas motoras del sistema nervioso periférico y pares craneales. La proteólisis que lleva a cabo la cadena ligera de la toxina botulínica en las neuronas inhibe la liberación de acetilcolina en la sinapsis, provocando ausencia de contracciones musculares y parálisis.

Las esporas de *C. perfringens* se introducen en las heridas por contaminación con tierra o heces fecales. En presencia de tejido necrótico (ambiente anaerobio), las esporas germinan y las células vegetativas producen muchas toxinas distintas. Muchas de éstas son necrosantes y hemolíticas y, junto con la distensión de los tejidos por el gas formado a partir de los carbohidratos y la interferencia con la irrigación, favorecen la diseminación de **gangrena gaseosa**. La **toxina alfa** de *C. perfringens* es una **lecitinasa** que daña las membranas celulares al degradar a la lecitina para formar fosforilcolina y diglicérido. La toxina theta también posee un efecto necrosante. Las especies de *Clostridium* también producen colagenasas y DNAsas.

Algunas cepas de *S. aureus* que proliferan en las membranas mucosas (p. ej., la vagina durante la menstruación) o en las heridas, elaboran **toxina-1 del síndrome de choque tóxico** (**TSST-1**, *toxic shock syndrome toxin-1*), que causa el **síndrome de choque tóxico** (cap. 13). Esta enfermedad se caracteriza por choque, fiebre elevada y un eritema rojo difuso que posteriormente se descama; abarca muchos otros órganos y sistemas. El TSST-1 es un superantígeno que estimula la producción linfocítica de grandes cantidades de IL-1 y TNF (cap. 8). Sus principales manifestaciones clínicas al parecer son secundarias a los efectos de las citocinas. La TSST-1 actúa de manera sinérgica con una concentración reducida de lipopolisacárido para su efecto tóxico. Muchos de los efectos generalizados del TSST-1 son similares a los efectos tóxicos de un lipopolisacárido (véase más adelante).

Ciertas cepas del estreptococo hemolítico β del grupo A producen **exotoxina A pirógena** que es similar o igual a la toxina eritrógena estreptocócica, que provoca la escarlatina. La infección rápidamente progresiva de los tejidos blandos por estreptococo que produce la exotoxina A pirógena se acompaña de una serie de manifestaciones clínicas que son similares a las del síndrome de choque tóxico estafilocócico. La exotoxina A pirógena también es un superantígeno que actúa de manera similar a la TSST-1.

B. Exotoxinas que causan enfermedades diarreicas e intoxicación alimentaria

Con frecuencia las exotoxinas que causan enfermedades diarreicas se denominan enterotoxinas (cuadro 48-3). A continuación se describen algunas características de ciertas enterotoxinas importantes.

V. cholerae ha causado enfermedad diarreica epidémica (cólera) en muchas partes del mundo (cap. 17) y es otra enfermedad secundaria a una toxina de gran importancia tanto histórica como actual. Una vez que penetra en el hospedador a través de alimentos o bebidas contaminadas, *V. cholerae* invade la mucosa intestinal y se adhiere a las microvellosidades del borde en cepillo de las células epiteliales intestinales. *V. cholerae*, casi siempre el serotipo O1 (y O139), produce una enterotoxina con un peso molecular de 84 000. Esta toxina consta de dos subunidades: A, que se degrada hasta formar dos péptidos, A_1 y A_2, unidos por un puente disulfuro; y B. La subunidad B posee cinco péptidos idénticos y une rápidamente a la toxina con las moléculas de gangliósido de la membrana celular. La subunidad A penetra en la membrana celular incrementando la actividad de la adenilato ciclasa y la concentración de cAMP. El efecto neto es la secreción rápida de electrólitos hacia la luz del intestino delgado, con absorción deficiente de sodio y cloruro y pérdida de bicarbonato. Algunas veces la diarrea pone en riesgo la vida y es masiva (p. ej., 20 a 30 L/día), y se presenta acidosis. Los efectos nocivos del cólera son secundarios a la pérdida del líquido y al desequilibrio acidobásico; por lo tanto, el tratamiento es la restitución de líquidos y electrólitos.

Algunas cepas de *S. aureus* producen enterotoxinas mientras proliferan en carnes, productos lácteos u otros alimentos. En los casos típicos, el alimento se ha preparado recientemente pero no se ha refrigerado en forma adecuada. Existen cuando menos seis tipos de **enterotoxina estafilocócica**. Una vez que se ingiere la toxina preformada, se absorbe en el intestino, donde estimula a los receptores nerviosos. Este estímulo es transmitido al centro del vómito en el sistema nervioso central. El resultado es la aparición de vómito en unas cuantas horas, el cual a menudo es en forma de proyectil. La diarrea es menos frecuente. La intoxicación alimentaria más frecuente es la estafilocócica. Las enterotoxinas de *S. aureus* son superantígenos.

También producen enterotoxinas algunas de las cepas de *Y. enterocolitica* (cap. 19), *Vibrio parahaemolyticus* (cap. 17), especies de *Aeromonas* (cap. 17) y otras bacterias, pero la participación de estas toxinas en la patogenia aún no se establece con claridad. La enterotoxina producida por *C. perfringens* se describe en el capítulo 11.

C. Lipopolisacáridos de las bacterias gramnegativas

Los lipopolisacáridos (LPS, endotoxina) de las bacterias gramnegativas se derivan de las paredes celulares y a menudo se liberan durante la lisis bacteriana. Estas sustancias son termoestables, tienen un peso molecular de 3 000 a 5 000 (**lipooligosacáridos, LOS**) y es posible extraer varios millones (**lipopolisacáridos**) (p. ej., con fenol-agua). Poseen tres regiones principales (cuadro 9-5; fig. 2-19).

Los **efectos fisiopatológicos de los LPS** son similares en cuanto a su origen bacteriano con excepción de las especies de *Bacteroides*, que poseen una estructura distinta y son menos tóxicos (cap. 21). Al principio, los LPS en el torrente sanguíneo se fijan a las proteínas circulantes que, a continuación, interactúan con los receptores de macrófagos, monocitos y otras células del sistema reticuloendotelial. Se libera IL-1, TNF y otras citocinas y se activan las cascadas del complemento y la coagulación. En la clínica o durante la experimentación se observa lo siguiente: fiebre, leucopenia e hipoglucemia; hipotensión y choque con hipoperfusión de los órganos vitales (p. ej., cerebro, corazón, riñón); coagulación intravascular y muerte por disfunción masiva de órganos.

La inyección de LPS provoca **fiebre** en un lapso de 60 a 90 minutos, que es el tiempo necesario para que el organismo libere IL-1. La inyección de IL-1 produce fiebre en los primeros 30 minutos. La inyección repetida de IL-1 produce la misma respuesta de fiebre cada vez, pero varias inyecciones de LPS generan una respuesta febril cada vez menor por la tolerancia que es secundaria, en parte, al bloqueo reticuloendotelial y, en parte, a los anticuerpos IgM contra los LPS.

La inyección de LPS genera **leucopenia** precoz, al igual que la bacteriemia con microorganismos gramnegativos. Más adelante aparece leucocitosis secundaria. La leucopenia precoz coincide con el inicio de la fiebre por la liberación de IL-1. Los LPS fomentan la glucólisis en muchos tipos celulares y en ocasiones provocan **hipoglucemia**.

Al principio de la bacteriemia por gramnegativos o después de la inyección de LPS, aparece **hipotensión**. En ocasiones se observa contracción arteriolar y venular diseminada seguida de dilatación vascular periférica, aumento de la permeabilidad vascular, reducción del retorno venoso y del gasto cardiaco, estancamiento en la microcirculación, vasoconstricción periférica, choque e hipoperfusión de los órganos con sus consecuencias. La coagulación intravascular diseminada también contribuye a estos cambios vasculares.

Los LPS son una de muchas sustancias que activan la vía alterna de la **cascada del complemento**, precipitando una gran variedad de reacciones intermediadas por el complemento (anafilatoxinas, respuestas quimiotácticas, daño de la membrana, etc.) y descenso en la concentración sérica de los componentes del complemento (C3, C5 a C9).

La **coagulación intravascular diseminada** (DIC, *disseminated intravascular coagulation*) es una complicación frecuente de la bacteriemia por gramnegativos y también ocurre en otras infecciones. Los LPS activan al factor XII (factor de Hageman), que es el primer paso en el sistema intrínseco de la coagulación, y desencadena la cascada de la coagulación, que culmina en la conversión de fibrinógeno a fibrina. Al mismo tiempo, los LPS activan al plasminógeno para formar plasmina (enzima proteolítica), que ataca a la fibrina con la formación de productos de degradación de la fibrina. Dos indicios de DIC son la reducción en el número de plaquetas y en la concentración de fibrinógeno y en la detección de productos de degradación de la fibrina. Algunas veces la heparina previene las lesiones que acompañan a la DIC.

Los LPS provocan adherencia de las plaquetas al endotelio vascular y obstrucción de los vasos sanguíneos pequeños, con necrosis isquémica o hemorrágica en diversos órganos.

La concentración de endotoxinas se mide en la prueba de limulus: el lisado de amebocitos provenientes del cangrejo herradura (limulus) forma un gel o se coagula en presencia de 0.0001 μg/ml de endotoxina.

CUADRO 9-5 Composición de las "endotoxinas" de lipopolisacáridos en las paredes celulares de las bacterias gramnegativas

Química	Nombre común
(a) Los elementos determinantes hapténicos específicos para cada tipo (los más externos en la pared celular) están formados por combinaciones recurrentes de oligosacáridos (p. ej., man-rha-gal)	(a) Polisacárido O-específico. Induce inmunidad específica
(b) (*N*-acetilglucosamina, glucosa, galactosa, heptosa). Igual en todas las bacterias gramnegativas	(b) Polisacárido central universal
(c) Esqueleto de grupos alternos de heptosa y fosfato enlazados por medio de KDO (ácido 2-ceto-3-desoxioctónico) con el lípido. El lípido se enlaza al peptidoglucano (por medio de puentes disulfuro)	(c) Lípido A con KDO encargado de la toxicidad primaria

D. Peptidoglucano de las bacterias grampositivas

El peptidoglucano de las bacterias grampositivas está formado por macromoléculas entrecruzadas que rodean las paredes bacterianas (cap. 2 y fig. 2-15). También pueden ocurrir cambios vasculares que provocan choque en las infecciones por bacterias grampositivas que no contienen LPS. Estas bacterias poseen mucho más peptidoglucano en la pared celular que las bacterias gramnegativas. El peptidoglucano liberado durante la infección comparte muchas de las actividades biológicas de los LPS, aunque el peptidoglucano es mucho menos potente que el LPS.

Enzimas

Numerosas especies de bacterias producen enzimas que no son tóxicas en sí, pero que participan en el proceso infeccioso. A continuación se describen algunas de estas enzimas.

A. Enzimas que degradan tejidos

Muchas bacterias producen enzimas que degradan tejidos. Las que se han descrito mejor son las de *C. perfringens* (cap. 11), *S. aureus* (cap. 13), estreptococo del grupo A (cap. 14) y, en menor grado, las de bacterias anaerobias (cap. 21). La participación de las enzimas que degradan tejidos en la patogenia de las infecciones es evidente, pero ha sido difícil de comprobar, en especial de cada enzima individual. Por ejemplo, los anticuerpos contra las enzimas del estreptococo que degradan tejidos no modifican las características de la enfermedad estreptocócica.

Además de **lecitinasa**, *C. perfringens* produce la enzima proteolítica **colagenasa,** que degrada colágena (la principal proteína del tejido conjuntivo fibroso) y fomenta la diseminación de la infección en los tejidos.

S. aureus produce **coagulasa**, que actúa en conjunto con una serie de factores sanguíneos para coagular el plasma. La coagulasa contribuye a la formación de paredes de fibrina alrededor de las lesiones estafilocócicas, lo que les ayuda a persistir en los tejidos. Asimismo, la coagulasa provoca depósito de fibrina en la superficie de los estreptococos, lo que ayuda a protegerlos de la fagocitosis o de la destrucción dentro de las células fagocíticas.

Las **hialuronidasas** son enzimas que hidrolizan ácido hialurónico, componente de la sustancia base del tejido conjuntivo. Muchas bacterias producen hialuronidasas (p. ej., estafilococos, estreptococos y anerobios) y ayudan a su diseminación en los tejidos.

Muchos estreptococos hemolíticos producen **estreptocinasa** (**fibrinolisina**), sustancia que activa a una enzima proteolítica del plasma. Así, esta enzima puede disolver el plasma coagulado y quizás ayuda a la diseminación rápida del estreptococo en los tejidos. La estreptocinasa se ha utilizado en el tratamiento del infarto agudo del miocardio para disolver los coágulos de fibrina.

Muchas bacterias producen sustancias que son **citolisinas**, es decir, disuelven a los eritrocitos (**hemolisinas**) o aniquilan células hísticas o leucocitos (**leucocidinas**). Por ejemplo, la **estreptolisina O** es producida por el estreptococo del grupo A y es mortal para ratones y hemolítica para los eritrocitos de muchos animales. La estreptolisina O es oxígeno-lábil y, por lo tanto, puede ser oxidada y desactivada pero se reactiva con las sustancias reductoras. Es antigénica. El mismo estreptococo produce una **estreptolisina S** inducida en el suero y oxígeno-estable, que no es antigénica. Los *Clostridium* producen diversas hemolisinas, como la lecitinasa antes descrita. La mayor parte de las cepas de *S. aureus* produce hemolisinas; el estafilococo también produce leucocidinas. La mayor parte de los bacilos gramnegativos obtenidos a partir de sitios de infección produce hemolisinas. Por ejemplo, las cepas de *E. coli* que causan infecciones urinarias producen hemolisinas, mientras que las cepas que forman parte de la flora digestiva normal pueden o no producir hemolisinas.

B. Proteasas IgA1

La inmunoglobulina A constituye el anticuerpo secretor de las mucosas. Tiene dos formas principales, IgA1 e IgA2, que difieren cerca del centro, o región bisagra de las cadenas pesadas de las moléculas (cap. 8). La IgA1 posee una serie de aminoácidos en la región bisagra que no existen en la IgA2. Algunas bacterias patógenas producen enzimas, **proteasas IgA1**, que degradan a la IgA1 en enlaces específicos prolina-treonina o prolina-serina en la región bisagra e inactivan su función de anticuerpo. La proteasa IgA1 es un factor importante de virulencia para las bacterias patógenas *N. gonorrhoeae, N. meningitidis, H. influenzae* y *S. pneumoniae.* También producen estas enzimas algunas cepas de *Prevotella melaninogenica*, algunos estreptococos que causan enfermedades dentales y unas cuantas cepas de otras especies que en ocasiones causan enfermedades. Las especies apatógenas de los mismos géneros no poseen genes que codifican esta enzima y por lo tanto no la producen. La producción de proteasa IgA1 permite a los microorganismos patógenos inactivar al principal anticuerpo que se encuentra en las mucosas y, por lo tanto, eliminan la protección que le confiere este anticuerpo al hospedador.

Factores antifagocíticos

Muchas bacterias patógenas son aniquiladas rápidamente una vez que las ingieren los polimorfonucleares o los macrófagos. Otras evaden la fagocitosis o los mecanismos microbicidas leucocíticos al absorber componentes del hospedador sano en su superficie celular. Por ejemplo, *S. aureus* posee una proteína A de superficie que se fija a la porción Fc de IgG. Otras bacterias patógenas poseen factores de superficie que impiden la fagocitosis; p. ej., *S. pneumoniae, N. meningitidis;* muchas otras bacterias tienen cápsulas de polisacáridos. *S. pyogenes* (estreptococo del grupo A) posee una proteína M. *N. gonorrhoeae* (gonococo) tiene fimbrias. La mayor parte de estas estructuras antifagocíticas de la superficie exhiben una gran heterogeneidad antigénica. Por ejemplo, existen más de 90 tipos de polisacáridos capsulares neumocócicos y más de 150 tipos de proteína M del estreptococo A. Los anticuerpos contra un tipo del factor antifagocítico (p. ej., polisacárido capsular, proteína M) protegen al hospedador contra la enfermedad que causan las bacterias de ese tipo, pero no contra la de otros tipos antigénicos del mismo factor.

Unas cuantas bacterias (p. ej., *Capnocytophaga* y *Bordetella*) producen factores solubles o toxinas que inhiben la quimiotaxis de los leucocitos y de esta manera evaden la fagocitosis por un mecanismo distinto.

Patogenicidad intracelular

Algunas bacterias (p. ej., *M. tuberculosis,* especies de *Brucella* y de *Legionella*) viven y proliferan en el ambiente hostil dentro de los polimorfonucleares, macrófagos o monocitos. Lo hacen gracias a una serie de mecanismos: algunas veces evitan la entrada de los fagolisosomas y viven dentro del citosol del fagocito. Otras veces evitan la fusión del fagosoma con el lisosoma y viven dentro del fagosoma; y otras veces son resistentes a las enzimas lisosómicas y sobreviven dentro del fagolisosoma.

Muchas bacterias viven dentro de células no fagocíticas (véase la sección anterior, Invasión de las células y tejidos del hospedador).

Heterogeneidad antigénica

Las estructuras de superficie de las bacterias (y de muchos otros microorganismos) tienen gran heterogeneidad antigénica. Frecuentemente estos antígenos se utilizan como parte de un sistema de clasificación serológica para las bacterias. La clasificación de las 2 000 salmonellas se basa principalmente en los tipos de los antígenos O (cadena lateral de lipopolisacáridos) y H (flagelar). Asimismo, existen más de 150 tipos de *E. coli* O y más de 100 tipos de *E. coli* K (capsular). El tipo antigénico de la bacteria en ocasiones indica la virulencia, en relación con la naturaleza clonal de la bacteria patógena, aunque en realidad no constituya el factor (o factores) de virulencia. *V. cholerae* con antígeno O tipo 1 y antígeno O tipo 139, típicamente produce toxina del cólera, pero muy pocos de los otros tipos O producen la toxina. Asimismo, muy pocas variedades de estreptococo del grupo A con proteína M se relacionan con una frecuencia elevada de glomerulonefritis posestreptocócica. Los tipos A y C del polisacárido

capsular *N. meningitidis* están relacionados con la meningitis epidémica. En los ejemplos antes citados y en otros sistemas de tipificación en los que se utilizan antígenos de superficie para la clasificación serológica, los tipos antigénicos para determinada cepa aislada de la especie permanecen constantes durante la infección y en el subcultivo de la bacteria.

Otras bacterias y microorganismos tienen la capacidad de realizar cambios frecuentes en la forma antigénica de sus estructuras de superficie *in vitro* y quizá *in vivo*. Un ejemplo conocido es el de *Borrelia recurrentis*, que causa la fiebre recurrente. Otro ejemplo que ha sido muy estudiado es *N. gonorrhoeae* (cap. 20). El gonococo posee tres antígenos de superficie que cambian de forma con gran rapidez, cerca de 1 en cada 1 000: lipopolisacárido, tipos 6 a 8; fimbrias, tipos innumerables; y Opa, tipos 10 a 12 para cada cepa. El número de formas antigénicas es tal que cada cepa de *N. gonorrhoeae* difiere desde el punto de vista antigénico. El cambio de forma para cada uno de los tres antígenos al parecer es regulado por un mecanismo genético distinto. Supuestamente el cambio frecuente de formas antigénicas permite al gonococo evadir al sistema inmunitario del hospedador; los gonococos que no son atacados por el sistema inmunológico sobreviven y causan enfermedad.

Sistemas bacterianos de secreción

Los sistemas bacterianos de secreción son importantes en la patogenia de la infección y son indispensables para la interacción entre bacterias y células eucariotas del hospedador. Las bacterias gramnegativas poseen paredes celulares con membranas citoplasmáticas y membranas externas; también existe una capa delgada de peptidoglucano. Las bacterias grampositivas tienen una membrana citoplasmática y una capa muy gruesa de peptidoglucano (cap. 2). Algunas bacterias gramnegativas y grampositivas poseen cápsulas también. La complejidad y rigidez de las estructuras de la pared celular requieren mecanismos para la migración de proteínas a través de las membranas. Estos sistemas de secreción participan en las funciones celulares como el transporte de proteínas que forman las fimbrias o flagelos y en la secreción de enzimas o toxinas hacia el medio extracelular. Las diferencias en la estructura de la pared celular entre las bacterias gramnegativas y grampositivas tienen como resultado ciertas diferencias en los sistemas de secreción. En el capítulo 2 se describen los mecanismos básicos de los distintos sistemas bacterianos de secreción. (Nota: cada sistema bacteriano de secreción se describió en el orden en que fue descubierto, no por su mecanismo de acción.)

En las bacterias tanto gramnegativas como grampositivas el principal mecanismo para la secreción de proteínas es una vía general de secreción (***sec***). Esta vía participa en la inserción de la mayor parte de las proteínas de la membrana bacteriana y proporciona la vía principal para que las proteínas atraviesen la membrana citoplasmática bacteriana. Algunos sistemas bacterianos de secreción dependen de *sec*, incluido el **sistema de secreción tipo V**, que tiene autotransportadores, vías de secreción en par y vías de chaperón/acomodador y el complejo del **sistema de secreción tipo II**. Las vías tipos V y II funcionan en bacterias gramnegativas para transportar proteínas a través de la membrana externa una vez que éstas han migrado a través de la membrana citoplasmática por la vía general de secreción. Las vías independientes de *sec* comprenden al **sistema de secreción tipo I** o **sistema de secreción ABC** (dominio o casete de unión a ATP) y el **sistema de secreción tipo III** . Las vías tipos I y III no interactúan con las proteínas que han sido transportadas a través de la membrana citoplasmática por el sistema *sec*. En su lugar, estos sistemas translocan proteínas a través de las membranas tanto citoplasmática como externa. El tipo III, que se activa al contacto con la célula eucariota hospedadora, fomenta el transporte de proteínas directamente desde el interior de la bacteria hasta el interior de la célula hospedadora utilizando una estructura similar a una aguja; una vez en el citoplasma de la célula hospedadora, las proteínas transportadas pueden manipular la función de la célula hospedadora. La **vía de secreción tipo IV** puede depender de *sec* o ser independiente de *sec* y es capaz de transportar proteínas o DNA. En el cuadro 9-6 se muestran algunos ejemplos de los sistemas de secreción y su participación en la patogenia. Estos ejemplos sólo son una pequeña muestra diseñada para ilustrar las funciones del gran número de actividades moleculares de secreción utilizadas por las bacterias para proporcionar nutrientes y facilitar su patogenia.

Requerimiento de hierro

El hierro es un nutriente esencial para la proliferación y metabolismo de casi todos los microorganismos y también es un cofactor esencial de numerosos procesos metabólicos y enzimáticos. La reserva de hierro en el ser humano para la asimilación microbiana es limitada puesto que el hierro es fijado por las proteínas altamente afines que se unen a él, llamadas transferrina en el suero y lactoferrina en las mucosas. La capacidad que tiene un microorganismo patógeno de obtener con eficiencia hierro a partir del hospedador es indispensable para su potencial patógeno. En el capítulo 5 se describen los requerimientos de hierro, la manera como las bacterias lo adquieren y el metabolismo bacteriano de hierro.

La reserva de hierro repercute en la virulencia de muchos microorganismos patógenos. Por ejemplo, el hierro constituye un factor esencial de virulencia en *Pseudomonas aeruginosa*. El uso de modelos animales en la infección por *Listeria monocytogenes* ha demostrado que a mayor cantidad de hierro, mayor susceptibilidad a padecer la infección, mientras que la falta de hierro prolonga la supervivencia; el tratamiento con hierro complementario provoca un aumento en las infecciones mortales.

Otro factor importante en la patogenia es la menor reserva de hierro. Por ejemplo, el gen de la toxina diftérica reside en un bacteriófago lisógeno y sólo las cepas de *C. diphtheriae* que poseen este bacteriófago son toxígenas. En presencia de una reserva reducida de hierro aumenta la producción de toxina diftérica y potencialmente la difteria más grave. La virulencia de *N. meningitidis* en ratones aumenta 1 000 veces o más cuando las bacterias se cultivan en un ambiente con poco hierro.

La deficiencia de hierro en el ser humano también influye en el proceso infeccioso. Varios millones de personas en el mundo sufren de ferropenia. Este problema repercute en numerosos aparatos y sistemas como el inmunológico, provocando deficiencia de la inmunidad celular e hipofunción de los polimorfonucleares. Durante una infección activa quizá conviene retrasar el tratamiento con hierro puesto que muchos microorganismos patógenos pueden utilizar la pequeña cantidad de hierro complementario, con lo que aumenta su virulencia.

CUADRO 9-6 Ejemplos de moléculas translocadas por los sistemas bacterianos de secreción y su relevancia para la patogenia

Sistema de secreción	Género/especie	Sustrato/participación en la patogenia
Tipo I (independiente de *sec*)	*Escherichia coli*	La hemolisina-α crea agujeros en las membranas celulares
	Proteus vulgaris	Hemolisina
	Morganella morgagnii	Hemolisina
	Bordetella pertussis	Adenilato ciclasa que cataliza la síntesis de cAMP
	Pseudomonas aeruginosa	Proteasa alcalina
	Serratia marcescens	Zn proteasa que tiene como resultado daño de la célula hospedadora
Tipo II (utiliza *sec* o *tat*)	*Pseudomonas aeruginosa*	Elastasa, exotoxina A, fosfolipasa C, otras
	Legionella pneumophila	Fosfatasa ácida, lipasa, fosfolipasa, proteasa, RNAasa
	Vibrio cholerae	Toxina del cólera
	Serratia marcescens	Hemolisina
Tipo III (independiente de *sec*; dependiente del contacto)	Especies de *Yersinia*	Sistema Ysc-Yop; toxinas que bloquean la fagocitosis e inducen apoptosis
	Pseudomonas aeruginosa	Citotoxina
	Especies de *Shigella*	Regula las señales, invasión y muerte de las células hospedadoras
	Salmonella enterica subespecie *enterica* serotipos Choleraesuis, Dublin, Paratyphi, Typhi, Typhimurium, etcétera	Efectores de los islotes 1 y 2 de patogenicidad de *Salmonella* (SPI1 y SPI2) que fomentan la adherencia e invasión de las células hospedadoras
	Escherichia coli	Enterohemorrágica (EHEC) y enteropatógena (EPEC); rompe las barreras epiteliales y uniones estrechas
	Vibrio parahaemolyticus	Poder citotóxico directo
Tipo IV (dependiente de *sec* e independiente de *sec*)		
Sustratos de proteínas	*Bordetella pertussis*	Toxina de tos ferina
	Helicobacter pylori	Citotoxina
Sustratos de DNA	*Neisseria gonorrhoeae*	Sistema de exportación de DNA
	Helicobacter pylori	Sistema de captación y liberación de DNA
Tipo V	*Neisseria gonorrhoeae*	IgA1 proteasa fragmenta a la IgA1 en la región de la bisagra y destruye su actividad de anticuerpo (que depende de *sec*)
	Haemophilus influenzae	IgA1 proteasa, adhesinas
	Escherichia coli	Serina proteasa, adhesinas, fimbrias tipo 1, fimbrias-P
	Shigella flexneri	Serina proteasa
	Serratia marscesens	Proteasas
	Especies de *Bordetella*	Adhesinas
	Bordetella pertusis	Hemaglutinina filamentosa
	Yersinia pestis	Antígeno capsular

Función de las biopelículas bacterianas

Una biopelícula es un conglomerado de bacterias interactivas adheridas a una superficie sólida o unas a otras y encerradas dentro de una matriz de exopolisacárido. Difiere de la bacteria del plancton o de vida libre porque las interacciones de los microorganismos no ocurren de la misma forma. Las biopelículas forman una capa viscosa sobre las superficies sólidas y existen en toda la naturaleza. Una biopelícula puede estar formada por una sola especie de bacterias o por varias especies en conjunto. Algunas veces participan los hongos, incluidas las levaduras. Una vez que se forma una biopelícula, se acumulan moléculas de percepción quórum producidas por la bacteria en la biopelícula, modificando la actividad metabólica de la bacteria. En el capítulo 2 se describe la biología básica de la biopelícula de exopolisacárido (glucocáliz); las moléculas de percepción de quórum se describen en el capítulo 1.

La bacteria en la matriz de exopolisacárido se encuentra protegida de los mecanismos inmunitarios del hospedador. Esta matriz también funciona como barrera de difusión para algunos antimicrobianos, pero otros se fijan a ésta. Algunas de las bacterias de la biopelícula exhiben gran resistencia a los antimicrobianos frente a la misma cepa de bacterias cultivadas en caldo, con vida libre, lo que ayuda a explicar la razón por la que es tan difícil tratar las infecciones en las que participan biopelículas.

Las biopelículas son importantes en las infecciones de los seres humanos, que son persistentes y difíciles de tratar. Algunos ejemplos son las infecciones del catéter venoso central por *Staphylococcus epidermidis* y *S. aureus*, las infecciones oculares como las que se producen en las lentes de contacto y en las intraoculares, la placa dental y las de prótesis articulares. Quizá el ejemplo de mayor profundidad de una biopelícula en una infección en el ser humano es la de vías respiratorias por *P. aeruginosa* en pacientes con fibrosis quística. Existen muchos otros ejemplos.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Mujer de 22 años de edad que trabaja en un vivero y manifiesta antecedentes de fiebre y tos de dos meses de duración. En este periodo ha bajado 5 kg de peso. La radiografía de tórax muestra infiltrados bilaterales en los lóbulos superiores con cavidades. La tinción del esputo revela bacilos acidorresistentes. Esto significa que probablemente la paciente adquirió la infección por:
   (A) Actividad sexual
   (B) Ingerir los microorganismos en los alimentos
   (C) Utilizar el pasamanos del transporte público
   (D) Manipular tierra para macetas
   (E) Respirar la secreción en aerosol que contiene el microorganismo
2. Durante una pandemia establecida de una enfermedad, un grupo de 175 pasajeros voló de Lima, Perú, a Los Ángeles. La comida del avión incluyó ensalada de cangrejo, que comió 66% de los pasajeros. Después de aterrizar en Los Ángeles, varios pasajeros se transfirieron a otros vuelos con destino a otras partes de California y otros estados occidentales. Dos de los pasajeros que permanecieron en Los Ángeles manifestaron diarrea líquida intensa. El estado de los demás pasajeros se desconoce. La causa más probable de la diarrea de estos dos pasajeros es:
   (A) *Escherichia coli* O157:H7 (lipopolisacárido O antígeno 157; antígeno flagelar 7)
   (B) *Vibrio cholerae* tipo O139 (lipopolisacárido O antígeno 139)
   (C) *Shigella dysenteriae* tipo 1
   (D) *Campylobacter jejuni*
   (E) *Entamoeba histolytica*
3. Una mujer de 65 años de edad tiene un catéter venoso central a permanencia para un tratamiento intravenoso. Presenta fiebre y posteriormente varios hemocultivos positivos para *Staphylococcus epidermidis.* Todas las cepas tienen la misma morfología de las colonias y patrón de susceptibilidad antimicrobiana, lo que sugiere que son iguales. Se cree que en el catéter existe una biopelícula de *Staphylococcus epidermidis.* ¿Cuál de las afirmaciones siguientes es correcta?
   (A) La biopelícula que contiene *Staphylococcus epidermidis* probablemente se desprenderá del catéter
   (B) La producción de un polisacárido extracelular inhibe el crecimiento de *Staphylococcus epidermidis,* limitando la infección
   (C) El *Staphylococcus epidermidis* en la biopelícula probablemente es más sensible al tratamiento antimicrobiano puesto que el metabolismo de estas bacterias es reducido
   (D) La percepción de quórum de *Staphylococcus epidermidis* aumenta la sensibilidad al tratamiento antimicrobiano
   (E) Las complejas interacciones moleculares dentro de la biopelícula obstaculizan el tratamiento antimicrobiano efectivo y probablemente sea necesario extraer el catéter para curar la infección
4. El primer microorganismo que cumplió con los postulados de Koch (a finales del siglo XIX) fue:
   (A) *Treponema pallidum*
   (B) *Stenotrophomonas maltophilia*
   (C) *Mycobacterium leprae*
   (D) *Bacillus anthracis*
   (E) *Neisseria gonorrhoeae*
5. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes acerca del lipopolisacárido es correcta?
   (A) Interactúa con macrófagos y monocitos, lo que provoca liberación de citocinas
   (B) El componente tóxico es la cadena lateral O
   (C) Forma agujeros en las membranas celulares de los eritrocitos generando hemólisis
   (D) Causa hipotermia
   (E) Causa parálisis
6. Un varón de 27 años de edad se sometió a una rinoplastia. Se le colocó un tapón nasal para detener la hemorragia. Cuatro horas después manifestó cefalea, mialgias y cólico abdominal con diarrea. A continuación apareció un exantema eritematoso (similar a una quemadura por el sol) en casi todo el cuerpo, incluidas las palmas de las manos y plantas de los pies. Su presión arterial es de 80/50 mmHg. Se dejó el tapón nasal. Las enzimas hepáticas se encontraban elevadas y había datos de insuficiencia renal moderada. ¿Cuál es la causa más probable de esta enfermedad?
   (A) Lipopolisacárido
   (B) Peptidoglucano
   (C) Una toxina que es un superantígeno
   (D) Una toxina con subunidades A y B
   (E) Lecitinasa (toxina alfa)
7. El microorganismo causal más probable de esta enfermedad (pregunta 6) es:
   (A) *Escherichia coli*
   (B) *Corynebacterium diphtheriae*
   (C) *Clostridium perfringens*
   (D) *Neisseria meningitidis*
   (E) *Staphylococcus aureus*

8. ¿Cuál de los siguientes se relaciona más probablemente con la formación de una biopelícula bacteriana?
   (A) Colonización de las vías respiratorias en un paciente con fibrosis quística y una cepa mucoide (productora de alginato) de *Pseudomonas aeruginosa*
   (B) Infección urinaria por *Escherichia coli*
   (C) Meningitis por *Neisseria meningitidis*
   (D) Tétanos
   (E) Impétigo por *Staphylococcus aureus*

9. Respecto al sistema bacteriano de secreciones tipo III, ¿cuál de las aseveraciones siguientes es correcta?
   (A) Suelen encontrarse en bacterias comensales grampositivas
   (B) Juegan un papel importante en la patogenia de las enfermedades causadas por toxinas de especies de *Clostridium,* tétanos, botulismo, gangrena gaseosa y colitis seudomembranosa
   (C) Provocan la liberación de efectores de patogenia hacia el medio extracelular, lo que fomenta la colonización y multiplicación bacterianas
   (D) Inyectan directamente proteínas bacterianas en las células hospedadoras a través de las membranas fomentando la patogenia de las infecciones
   (E) Las mutaciones que evitan la secreción bacteriana tipo III fomentan la patogenia

10. ¿Cuál de los siguientes enunciados es correcto?
   (A) Los lipopolisacáridos son parte de la pared celular de *Escherichia coli*
   (B) La toxina del cólera se fija a los flagelos de *Vibrio cholerae*
   (C) La lecitinasa de *Clostridium perfringens* causa diarrea
   (D) La toxina 1 del síndrome de choque tóxico es producida por cepas hemolíticas de *Staphylococcus epidermidis*

11. Una paciente de 15 años de edad proveniente de Bangladesh manifiesta diarrea acuosa abundante. Las evacuaciones simulan "agua de arroz". Son voluminosas, más de 1 L en los últimos 90 min. No se acompaña de fiebre y por lo demás se encuentra normal con excepción de los efectos de la pérdida de líquidos y electrólitos. La causa más probable de su enfermedad es:
   (A) Enterotoxina de *Clostridium difficile*
   (B) Toxina A con subunidades A y B
   (C) *Shigella dysenteriae* tipo 1 que produce toxina de shiga
   (D) *Escherichia coli* enterotoxígena que produce toxinas termolábiles y termoestables
   (E) Enterotoxina F estafilocócica

12. Lo más importante que se puede hacer para tratar a la paciente (pregunta 11) es:
   (A) Administrarle ciprofloxacina
   (B) Administrarle un toxoide
   (C) Administrarle la antitoxina correspondiente
   (D) Administrar líquidos y electrólitos
   (E) Cultivar las evacuaciones para establecer el diagnóstico correcto y luego administrar el tratamiento específico

13. Una mujer de 23 años de edad tiene antecedente de infecciones urinarias recurrentes, incluido por lo menos un episodio de pielonefritis. En el análisis del grupo sanguíneo se observa antígeno P del grupo sanguíneo. ¿Cuál de las siguientes es la causa más probable de sus infecciones?
   (A) *Escherichia coli* productora de toxina termoestable
   (B) *Escherichia coli* con antígeno K1 (capsular tipo 1)
   (C) *Escherichia coli* O139 (lipopolisacárido O antígeno 139)
   (D) *Escherichia coli* con fimbrias P
   (E) *Escherichia coli* O157:H7 (lipopolisacárido O antígeno 157; antígeno flagelar 7)

14. Un varón de 55 años de edad manifiesta adelgazamiento progresivo, dolor abdominal, diarrea y artropatía. Durante la valoración se lleva a cabo una biopsia de intestino delgado. Después de preparar y examinar la muestra bajo el microscopio de luz se observan cuerpos de inclusión positivos con ácido peryódico-Schiff (PAS) en la pared intestinal. ¿Cuál de los siguientes estudios se debe realizar para confirmar el diagnóstico de enfermedad de Whipple, causada por *Tropheryma whipplei*?
   (A) Cultivo en agar
   (B) Amplificación de la reacción en cadena de polimerasa (PCR) y secuencia de un segmento adecuado de DNA
   (C) Cultivo simultáneo con *Escherichia coli*
   (D) Hibridación *in situ*
   (E) Prueba directa de anticuerpos fluorescentes

15. ¿Cuál de los siguientes describe mejor el mecanismo de acción de la toxina diftérica?
   (A) Forma poros en los eritrocitos provocando hemólisis
   (B) Degrada la lecitina en las membranas de las células eucariotas
   (C) Provoca la liberación de factor de necrosis tumoral
   (D) Inhibe al factor de alargamiento 2
   (E) Provoca mayor actividad de la adenilato ciclasa

Respuestas

1. E	5. A	9. D	13. D
2. B	6. C	10. A	14. B
3. E	7. E	11. B	15. D
4. D	8. A	12. D	

BIBLIOGRAFÍA

Barton LL: *Structural and Functional Relationships in Prokaryotes.* Springer, 2005.

Coburn B, Sekirov, Finlay BB: Type III secretion systems and disease. Clin Microbiol Rev 2007;20:535.

Costerton JW et al: Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. Science 1999;284:1318.

Falkow S: Molecular Koch's postulates applied to microbial pathogenicity. Rev Infect Dis 1988;10(Suppl 3):S274.

Fredricks DN, Relman DA: Sequence-based identification of microbial pathogens: A reconsideration of Koch's postulates. Clin Microbiol Rev 1996;9:18.

Götz F: MicroReview: *Staphylococcus* and biofilms. Mol Microbiol 2002;43:1367.

Nickerson CA, Schurr MJ (eds): *Molecular Paradigms of Infectious Disease: A Bacterial Perspective*. Springer, 2006.

Relman DA, Falkow S: A molecular perspective of microbial pathogenicity. In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.

Salyers AA, Whitt DD: *Bacterial Pathogenesis*, 2nd ed. American Society for Microbiology, 2002.

Schmidt H, Hensel M: Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis. Clin Microbiol Rev 2004;17:14.

Schroeder GN, Hilbi H: Molecular pathogenesis of *Shigella* spp.: controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. Clin Microbiol Rev 2008;21:134.

CAPÍTULO

10

Microflora normal del cuerpo humano

El término "microflora normal o microbiota" se refiere a la población de microorganismos que habita en la piel y mucosas de las personas sanas. La investigación ha demostrado que esta "flora normal" ahora conocida como "microbiota normal" proporciona la primera línea de defensa contra los microorganismos patógenos, ayuda a la digestión, participa en la degradación de toxinas y contribuye a la maduración del sistema inmunitario. Los cambios en esta microbiota normal, o la inflamación que incitan estos comensales, generan enfermedades como la enfermedad inflamatoria intestinal. En el afán de comprender la participación de los ecosistemas microbianos residentes en la salud y la enfermedad del ser humano, en el año 2007 los *National Institutes of Health* lanzaron el *Human Microbiome Project*. Uno de los aspectos de este proyecto es contar con varios grupos de investigación para emprender simultáneamente el estudio de las comunidades microbianas que viven en la piel y mucosas del ser humano como la boca, esófago, estómago, colon y vagina utilizando secuencias genéticas de subunidades pequeñas (16S) de RNA ribosómico. Ya se han realizado numerosas observaciones. Por ejemplo, se ha establecido que existen grandes diferencias entre los individuos en cuanto al número y tipo de especies de microorganismos que habitan en el colon y que la obesidad quizá se correlaciona con los tipos de microbios que participan en determinadas vías metabólicas del aparato digestivo.

El lector debe advertir que este campo está evolucionando con rapidez y que nuestros conocimientos sobre la microbiota humana deberán cambiar conforme se obtenga más información sobre las comunidades microbianas residentes gracias al *Human Microbiome Project.*

La piel y mucosas albergan gran variedad de microorganismos que se clasifican en dos grupos: 1) la flora residente, que consta de variedades relativamente fijas de microorganismos que suelen encontrarse en determinada región a determinada edad; si se modifica, se restablece por sí misma de inmediato. 2) La flora transitoria consta de microorganismos apatógenos o potencialmente patógenos que habitan en la piel o mucosas durante varias horas, días o semanas; provienen del medio ambiente, no generan enfermedades ni se establecen permanentemente en la superficie.

Los miembros de la flora transitoria por lo general tienen poca importancia siempre y cuando la flora natural normal permanezca intacta. Sin embargo, cuando la flora natural cambia, estos microorganismos transitorios colonizan, proliferan y generan enfermedades.

En el cuadro 10-1 aparecen los microorganismos que suelen observarse en las muestras obtenidas de diversas regiones del cuerpo humano, que se consideran como flora normal. En el capítulo 21 se describe la clasificación de la flora bacteriana anaerobia normal.

Probablemente los microorganismos que se cultivan en el laboratorio representan sólo una fracción de los que forman parte de la flora microbiana residente o transitoria. Cuando se utiliza la reacción en cadena de la polimerasa de espectro amplio para amplificar el rDNA 16S bacteriano, es posible identificar numerosas bacterias antes no detectadas, como sucede en las secreciones de las pacientes con vaginosis bacteriana. Se ha demostrado que el número de especies que constituye la microbiota normal es mucho mayor de lo que se reconoce. Por lo tanto, los conocimientos sobre la microbiota normal se encuentran en transición. Como ya se mencionó, probablemente cambiará la relación entre los microorganismos antes no identificados y que potencialmente forman parte de la microbiota normal y la enfermedad.

PARTICIPACIÓN DE LA MICROBIOTA NATURAL

Los microorganismos que permanecen constantemente en las superficies del cuerpo son comensales. Su presencia en determinada área depende de ciertos factores fisiológicos como temperatura, humedad y determinados nutrientes y sustancias inhibidoras. Su existencia no es indispensable para la vida, puesto que es posible criar animales "sin gérmenes" en ausencia completa de flora microbiana normal. Sin embargo, la flora natural de ciertas áreas tiene una función importante para conservar la salud y la función normal. Los miembros de la flora natural del intestino sintetizan vitamina K y ayudan a la absorción de nutrientes. En las mucosas y piel, la flora natural evita la colonización de otros microorganismos patógenos y las enfermedades que éstos causan por medio de "interferencia bacteriana". El mecanismo de la interferencia bacteriana probablemente comprende la competencia por los receptores o sitios de unión en las células hospedadoras, competencia por los nutrientes, inhibición mutua por medio de productos metabólicos o tóxicos, inhibición mutua por medio de materiales antibióticos o bacteriocinas, y otros mecanismos. La supresión de la microbiota normal evidentemente crea un vacío local parcial que tiende a ser llenado

CUADRO 10-1 Microbiota bacteriana normal

Piel
Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus aureus (pequeña cantidad)
Especies de *Micrococcus*
Estreptococo α-hemolítico y no hemolítico (p. ej., *Streptococcus mitis*)
Especies de *Corynebacterium*
Especies de *Propionibacterium*
Especies de *Peptostreptococcus*
Especies de *Acinetobacter*
Pequeños números de otros microorganismos (especies de *Candida*, *Pseudomonas aeruginosa,* etc.)
Nasofaringe
Cualquier cantidad de los siguientes: difteroides, especies no patógenas de *Neisseria*, estreptococo hemolítico α; *S. epidermidis*, estreptococo no hemolítico, anaerobios (muchas especies para enumerarlas; distintas cantidades de especies de *Prevotella*, cocos anaerobios, especies de *Fusobacterium*, etc.)
Menor cantidad de los siguientes cuando se acompaña de los microorganismos antes enumerados: levaduras, especies de *Haemophilus*, neumococos, *S. aureus*, bacilos gramnegativos, *Neisseria meningitidis*
Tubo digestivo y recto
Diversas enterobacterias con excepción de *Salmonella, Shigella, Yersinia, Vibrio* y especies de *Campylobacter*
Bacilos gramnegativos no fermentadores de glucosa
Enterococos
Estreptococo hemolítico α y no hemolítico
Difteroides
Pequeñas cantidades de *Staphylococcus aureus*
Pequeñas cantidades de levaduras
Grandes cantidades de anaerobios (demasiadas especies para enumerarlas)
Genitales
Cualquier cantidad de los siguientes: especies de *Corynebacterium*, especies de *Lactobacillus*, estreptococo hemolítico α y no hemolítico, especies no patógenas de *Neisseria*
Los siguientes cuando son mixtos y no predominantes: enterococos, enterobacterias y otros bacilos gramnegativos, *Staphylococcus epidermidis, Candida albicans* y otras levaduras
Anaerobios (demasiados para enumerarlos); los siguientes son importantes cuando crecen en cultivo puro o claramente predominan: especies de *Prevotella, Clostridium* y especies de *Peptostreptococcus*

por microorganismos del ambiente o de otras regiones del cuerpo. Estos microorganismos se comportan como oportunistas y se pueden convertir en patógenos.

Por otro lado, los miembros de la flora normal generan enfermedades en ciertas circunstancias. Estos microorganismos se han adaptado a la forma no invasora de vida definida por las limitaciones del ambiente. Si se les separa forzadamente de las limitaciones de ese entorno y se les introduce en la circulación sanguínea o los tejidos, estos microorganismos algunas veces son patógenos. Por ejemplo, el estreptococo del grupo viridans es el microorganismo natural más frecuente de las vías respiratorias superiores. Cuando un gran número de estos microorganismos se introduce en la circulación (p. ej., después de una extracción dental o cirugía bucal), algunas veces se alojan en las válvulas cardiacas deformadas o prótesis valvulares generando una endocarditis infecciosa. Durante los traumatismos menores (limpieza dental o cepillado vigoroso), un pequeño número de estos microorganismos aparece transitoriamente en la circulación. Las especies de *Bacteroides* son las bacterias naturales más frecuentes del intestino grueso y son inocuas en ese lugar. Pero si se introducen en la cavidad peritoneal libre o en los tejidos pélvicos en combinación con otras bacterias por algún traumatismo, generan supuración y bacteriemia. Existen muchos otros ejemplos, pero lo importante es que la flora normal es inocua e incluso favorable en su ubicación normal dentro del hospedador y en ausencia de otras anomalías. Causan enfermedades cuando un gran número se introduce en otra ubicación siempre y cuando existan factores predisponentes.

MICROBIOTA NORMAL DE LA PIEL

La piel, al encontrarse expuesta constantemente al ambiente y en contacto con el mismo, es un medio idóneo para la perma-

nencia de microorganismos transitorios. Sin embargo, hospeda a una flora natural constante y definida que es modificada en distintas regiones anatómicas por las secreciones, el uso de ciertas prendas o la proximidad a las mucosas (boca, nariz y región perineal).

Los microorganismos predominantes de la piel son bacilos difteroides aerobios y anaerobios (p. ej., *Corynebacterium, Propionibacterium*); estafilococo no hemolítico tanto aerobio como anaerobio (*S. epidermidis* y otros estafilococos coagulasa-negativos, en ocasiones *S. aureus* y especies de *Peptostreptococcus*); bacilos grampositivos, aerobios y formadores de esporas que habitan en el aire ambiente y tierra; estreptococo hemolítico α (estreptococo viridans) y enterococos (especies de *Enterococcus*); y bacilos coliformes gramnegativos y *Acinetobacter*. En los pliegues cutáneos con frecuencia existen hongos y levaduras; en las áreas donde abundan las secreciones sebáceas (genitales, oído externo) existen micobacterias apatógenas.

Los principales factores para eliminar a los microorganismos no naturales de la piel son el pH reducido, los ácidos grasos en las secreciones sebáceas y la presencia de lisozimas. Ni la transpiración profusa ni el hecho de lavarse las manos o bañarse elimina o modifica de manera considerable la flora normal. Se puede reducir el número de microorganismos superficiales frotándose diaria y vigorosamente con jabón que contenga hexaclorofeno o algún otro desinfectante, pero la flora se restituye rápidamente a partir de las glándulas sebáceas y sudoríparas incluso cuando se excluye por completo el contacto con otras áreas de piel o con el ambiente. La aplicación de un apósito oclusivo en la piel tiende a provocar un gran aumento en la población total de microorganismos y además genera alteraciones cualitativas de la flora.

Las bacterias tanto anaerobias como aerobias a menudo se unen para producir infecciones sinérgicas (gangrena, fascitis necrosante, celulitis) de la piel y tejidos blandos. Con frecuencia las bacterias forman parte de la flora microbiana normal. Casi siempre es difícil señalar el microorganismo específico que causa la lesión progresiva, puesto que por lo general participan mezclas de microorganismos.

MICROBIOTA NORMAL DE LA BOCA Y VÍAS RESPIRATORIAS SUPERIORES

La flora de la nariz consta principalmente de corinebacterias, estafilococos (*S. epidermidis, S. aureus*) y estreptococos.

Frecuentemente las mucosas de la boca y faringe son estériles al nacimiento, pero se contaminan al atravesar el canal del parto. En las primeras 4 a 12 h después del nacimiento, el estreptococo viridans se establece como el miembro principal de la flora normal y lo sigue siendo por toda la vida. Quizá se origina en el aparato respiratorio de la madre y las personas que la atienden. Muy pronto se agregan estafilococos aerobios y anaerobios, diplococos gramnegativos (*Neisseria, Moraxella catarrhalis*), difteroides y algunos lactobacilos. Cuando emergen los dientes se establecen espiroquetas anaerobias, especies de *Prevotella* (en especial *Prevotella melaninogenica*), especies de *Fusobacterium,* especies de *Rothia* y de *Capnocytophaga* (véase más adelante), además de algunos vibrios anaerobios y lactobacilos. Normalmente existen especies de *Actinomyces* en el tejido amigdalino y las encías de los adultos, que algunas veces se acompañan de diversos protozoarios. En la boca existen levaduras (especies de *Candida*).

En la faringe y tráquea se establece una flora similar, mientras que en los bronquios sanos el número de bacterias es menor. Los bronquios pequeños y alvéolos normalmente son estériles. Los microorganismos que predominan en las vías respiratorias superiores, en especial la faringe, son estreptococos no hemolíticos y hemolíticos-α y *Neisserias*. También se observan estafilococos, difteroides, *Haemophylus*, neumococos, micosplasmas y *Prevotella*.

Las infecciones de la boca y aparato respiratorio por lo general son causadas por flora buconasal mixta, incluidos anaerobios. Las infecciones periodontales, abscesos peribucales, sinusitis y mastoiditis por lo general son causados por *P. melaninogenica, Fusobacteria* y *Peptostreptococci*. La aspiración de la saliva (que contiene hasta 10^2 de estos microorganismos aerobios) genera neumonía necrosante, absceso pulmonar y empiema.

Participación de la microbiota bucal normal en la caries dental

La caries es una desintegración de los dientes que empieza en la superficie y avanza hacia el interior. Primero se desmineraliza el esmalte superficial, que carece de células. Este fenómeno se ha atribuido al efecto de los ácidos producidos por la fermentación bacteriana. La descomposición ulterior de la dentina y cemento comprende la digestión bacteriana de la matriz proteínica.

La placa dental se ha considerado y tratado como una biopelícula compleja, que se puede definir de manera simplista como una acumulación de microorganismos dentro de una matriz. Las ventajas que tienen los microorganismos dentro de la biopelícula son su protección de los peligros ambientales (incluidos los antimicrobianos) y una mejor disposición espacial que aumenta al máximo el suministro energético a través del desplazamiento de nutrientes. Los microorganismos dentro de la biopelícula interactúan de una manera dinámica en numerosos niveles metabólicos y moleculares. En la placa dental, los primeros microorganismos que generan una capa de lodo son básicamente cocos y bacilos grampositivos que forman microcolonias en la superficie del esmalte dura y uniforme. La placa o biopelícula consta principalmente de depósitos gelatinosos de glucanos de alto peso molecular en donde las bacterias que producen ácidos se adhieren al esmalte. Los polímeros de carbohidratos (glucanos) son producidos principalmente por los estreptococos (*Streptococcus mutans*, *Peptostreptococcus*), quizá en combinación con actinomicetos. Al parecer existe una correlación importante entre la presencia de *S. mutans* y caries en determinadas áreas del esmalte. El segundo paso esencial en la formación de caries es la producción de grandes cantidades de ácido (pH <5.0) por parte de los estreptococos y lactobacilos de la placa. Esta concentración elevada de ácido desmineraliza al esmalte adyacente e inicia la caries.

En animales experimentales "sin gérmenes", el estreptococo cariógeno induce la formación de placa y caries. Para que se adhiera a la superficie lisa, necesita la síntesis de polímeros de glucano insolubles en agua a través de glucosil transferasas y la participación de sitios de enlace en la superficie de las células microbianas. (Quizá los polímeros de carbohidratos también ayudan a que se adhieran algunos estreptococos a las superficies endocárdicas.) Otros miembros de la microflora bacteriana, por

ejemplo veillonellae, se combinan con las glucosil transferasas de *Streptococcus salivarius* en la saliva y sintetizan polímeros de carbohidrato insolubles en agua para adherirse a las superficies del diente. Esta adherencia en ocasiones es iniciada por el anticuerpo salival IgA contra *S. mutans.* Algunos difteroides y estreptococos que producen levanos inducen una lesión específica de los tejidos blandos y resorción ósea típica de la enfermedad periodontal. Los microorganismos proteolíticos, incluidos actinomicetos y bacilos, participan en la acción microbiana sobre la dentina después de la lesión del esmalte. Conforme la biopelícula madura en ausencia de una buena higiene dental, se produce un enlace cruzado con especies de *Fusobacterium* seguido de bacterias principalmente gramnegativas (en la tercera fase). La formación de caries también depende de otros factores genéticos, hormonales, nutritivos y de otros tipos.

Para detener la caries es necesario extirpar la placa, limitar el consumo de sacarosa, alimentarse bien con un consumo suficiente de proteínas y reducir la producción de ácido en la boca limitando los carbohidratos disponibles y limpiarla con frecuencia. La aplicación de flúor en los dientes o su ingestión en el agua mejora la resistencia ácida del esmalte. Para detener la enfermedad periodontal es necesario extirpar los cálculos (depósitos calcificados) y tener una buen higiene bucal.

Las bolsas periodontales en las encías son fuentes especialmente abundantes de microorganismos, incluidos anaerobios, que rara vez se encuentran en otros sitios. Si bien participan en la enfermedad periodontal y la destrucción de los tejidos, son especialmente importantes cuando se implantan en otros sitios, por ejemplo, causando endocarditis bacteriana o bacteriemia en un paciente con granulocitopenia. Dos ejemplos son las especies de *Capnocytophaga* y *Rothia dentocariosa.* Las especies de *Capnocytophaga* son anaerobios deslizantes fusiformes gramnegativos; las especies de *Rothia* son bacilos pleomorfos, aerobios, grampositivos. Quizás ambos participan en la flora microbiana compleja de la enfermedad periodontal con destrucción ósea prominente. En los pacientes inmunodeficientes con granulocitopenia, este fenómeno puede generar lesiones oportunistas graves en otros órganos.

MICROBIOTA NORMAL DEL INTESTINO

Al nacimiento, el intestino es estéril, pero poco después se introducen microorganismos con el alimento. En los niños alimentados al seno materno, el intestino contiene un gran número de estreptococos productores de ácido láctico y lactobacilos. Estos microorganismos aerobios y anaerobios, grampositivos e inmóviles (p. ej., especies de *Bifidobacterium*) producen ácido a partir de carbohidratos y toleran un pH de 5.0. En los niños alimentados con biberón, existe una flora más mixta en el intestino y los lactobacilos son menos predominantes. Conforme los hábitos alimentarios adquieren el patrón del adulto, la flora intestinal cambia. La alimentación repercute significativamente en la composición relativa de la flora tanto intestinal como fecal. El intestino del recién nacido en cuidados intensivos tiende a estar colonizado por enterobacterias como *Klebsiella, Citrobacter* y *Enterobacter.*

En el adulto sano, el esófago contiene microorganismos que llegan con la saliva y los alimentos. La acidez del estómago mantiene a los microorganismos en un mínimo (10^3 a 10^5/g de contenido) a menos que la obstrucción del píloro facilite la proliferación de cocos y bacilos grampositivos. El pH ácido normal del estómago lo protege de las infecciones causadas por algunos microorganismos patógenos intestinales, por ejemplo, cólera. La administración de antiácidos, antagonistas de los receptores de H_2 e inhibidores de la bomba de protones para la úlcera péptica y el reflujo gastroesofágico aumenta considerablemente la flora microbiana del estómago, incluidos diversos microorganismos que por lo general están en las heces fecales. Conforme el pH del contenido intestinal se alcaliniza, la flora residente aumenta de manera gradual. En el duodeno del adulto, existen 10^3 a 10^6 bacterias/g de contenido; en el yeyuno e íleon, esta cifra es de 10^5 a 10^8 bacterias por gramo y en el ciego y colon transverso es de 10^8 a 10^{10} bacterias por gramo. En la porción superior del intestino predominan los lactobacilos y enterococos, pero en la porción inferior del íleon y ciego la flora es fecal. El colon sigmoides y recto contienen alrededor de 10^{11} bacterias/g de contenido, que constituye 60% de la masa fecal. El número de anaerobios es 1 000 veces mayor que los microorganismos facultativos. Durante la diarrea, el contenido bacteriano disminuye de manera considerable, mientras que en la estasis instestinal la cuenta se eleva.

En el colon del adulto sano, entre 96 y 99% de la flora bacteriana consta de anaerobios: especies de *Bacteroides*, especialmente *Bacteroides fragilis;* especies de *Fusobacterium*; lactobacilos anaerobios, por ejemplo bifidobacterias; clostridios (*Clostridium perfringens*, 10^3 a 10^5/g) y cocos anaerobios grampositivos (especies de *Peptostreptococcus*). Sólo 1 a 4% son aerobios facultativos (bacterias coliformes gramnegativas, enterococos y pequeños números de proteus, pseudomonas, lactobacilos, candida y otros microorganismos). La flora fecal normal contiene más de 100 tipos distintos de microorganismos, que se pueden cultivar en forma sistemática en el laboratorio. Quizá existen más de 500 especies de bacterias en el colon y muchas más que probablemente se desconocen. Un traumatismo menor (p. ej., sigmoidoscopia, colon por enema) induce una bacteriemia transitoria en 10% de los procedimientos.

Las funciones importantes de la microbiota intestinal se pueden dividir en tres categorías principales (véase la revisión de O'Hara et al. en las referencias bibiliográficas). Las primeras son funciones protectoras, en las que las bacterias desplazan e inhiben a los microorganismos patógenos potenciales en forma indirecta al competir por los nutrientes y receptores o bien directamente al producir factores antimicrobianos como bacteriocinas y ácido láctico. En segundo lugar, los microorganismos comensales son importantes para la formación y función del sistema inmunitario de las mucosas. Inducen la secreción de IgA, estimulan el desarrollo del sistema inmunitario humoral intestinal y modulan las respuestas locales de células T y los perfiles de citocinas. La tercera categoría consta de una gran variedad de funciones metabólicas. Las bacterias intestinales producen ácidos grasos de cadena corta que regulan la diferenciación de las células epiteliales intestinales. Sintetizan vitamina K, biotina y folato y fomentan la absorción de iones. Algunas bacterias metabolizan carcinógenos alimenticios y ayudan con la fermentación del residuo alimenticio que no se digiere. Ahora se sabe que las bacterias intestinales influyen en el depósito de grasa del hospedador, provocando obesidad.

En el hombre, los antimicrobianos que se administran por vía oral suprimen temporalmente los componentes sensibles a los fármacos de la flora fecal. Por lo general esto se lleva a cabo

por medio de la administración oral preoperatoria de medicamentos insolubles. Por ejemplo, la neomicina con eritromicina suprime en uno o dos días una parte de la flora intestinal, especialmente a los aerobios. El metronidazol tiene la misma función pero con anaerobios. Si se lleva a cabo una operación de la porción final del intestino cuando el recuento de microorganismos es menor, es posible proteger contra las infecciones por un derrame accidental. Sin embargo, poco después el recuento de la flora fecal se eleva hasta alcanzar la cifra normal o incluso una cifra mayor, principalmente de microorganismos seleccionados por su resistencia relativa a los fármacos utilizados. Los microorganismos sensibles al fármaco son sustituidos por microorganismos resistentes, en especial estafilococos, enterobacterias, enterococos, proteus, pseudomonas, *Clostridium difficile* y levaduras.

El consumo de grandes cantidades de *Lactobacillus acidophilus* permite el establecimiento temporal de este microorganismo en el intestino y la supresión parcial concomitante de otra microflora intestinal.

La flora anaerobia del colon, incluidos *B. fragilis,* clostridios y peptoestreptococos, participa en la formación de los abscesos que se originan durante la perforación intestinal. *Prevotella bivia* y *Prevotella disiens* son importantes en los abscesos de la pelvis que se forman en los órganos genitales femeninos. Al igual que *B. fragilis*, estas especies son resistentes a la penicilina; por lo tanto, se debe utilizar otro fármaco.

Si bien la microflora intestinal normalmente es útil para el hospedador, en las personas con predisposición genética, algunos componentes de la flora generan enfermedades. Por ejemplo, se cree que la enfermedad inflamatoria intestinal está vinculada con la pérdida de la tolerancia inmunitaria a los antígenos bacterianos. Esto provoca una inflamación intensa por una respuesta inmunitaria exagerada. Mecanismos similares quizá sean importantes en el cáncer intestinal como el de colon.

MICROBIOTA NORMAL DE LA URETRA

La porción anterior de la uretra en ambos sexos contiene un pequeño número del mismo tipo de microorganismos encontrados en la piel y perineo. La orina de la micción normal contiene aproximadamente 10^2 a 10^4/ml de estos microorganismos.

MICROBIOTA NORMAL DE LA VAGINA

Poco después del nacimiento, aparecen lactobacilos aerobios en la vagina y persisten siempre y cuando el pH permanezca ácido (varias semanas). Cuando el pH se neutraliza (permanece así hasta la pubertad) la flora es mixta a base de cocos y bacilos. Durante la pubertad, reaparecen los lactobacilos aerobios y anaerobios en gran cantidad y contribuyen a mantener el pH ácido al producir ácido a partir de carbohidratos, en especial glucógeno. Aparentemente este es un mecanismo importante para prevenir el establecimiento de otros microorganismos potencialmente nocivos en la vagina. Cuando los lactobacilos se suprimen por la administración de antimicrobianos, aumenta el número de levaduras u otras bacterias causando irritación e inflamación. Después de la menopausia, el número de lactobacilos disminuye de nuevo y se restablece una flora mixta. La flora vaginal normal comprende estreptococo del grupo B hasta en 25% de las mujeres en edad reproductiva. Durante el parto, el producto adquiere al estreptococo del grupo B, que posteriormente genera septicemia neonatal y meningitis. La flora vaginal normal también comprende con frecuencia estreptococo α-hemolítico, estreptococos anaerobios (peptoestreptococos), especies de *Prevotella,* clostridios, *Gardnerella vaginalis, Ureaplasma urealyticum* y en ocasiones especies de *Listeria* o *Mobiluncus.* El moco cervical posee actividad antibacteriana y contiene lisozimas. En algunas mujeres, el introito vaginal contiene una flora abundante similar a la del periné y el área perineal. Quizá éste es un factor predisponente en las infecciones urinarias recurrentes. Los microorganismos vaginales en el momento del parto infectan en ocasiones al recién nacido (p. ej., estreptococo del grupo B).

MICROBIOTA NORMAL DE LA CONJUNTIVA

Los microorganismos que predominan en la conjuntiva son difteroides, *S. epidermidis* y estreptococos no hemolíticos. Con frecuencia también existen *Neisseria* y bacilos gramnegativos similares a *Haemophilus* (especies de *Moraxella*). La flora conjuntival normalmente es regulada por la circulación de lágrimas, que contienen lisozima antibacteriana.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una mujer de 26 años de edad acude con su médico por una secreción vaginal anormal. En la exploración física el médico observa una secreción homogénea, poco espesa y de color blanco grisácea adherida a la pared vaginal. El pH de la secreción es de 5.5 (normal: <4.3). En la tinción de Gram se observan numerosas células epiteliales cubiertas por bacilos gram-variables. Se diagnostica vaginosis bacteriana. ¿Cuál de los microorganismos que forman parte normal de la flora genital disminuye considerablemente en la vaginosis bacteriana?
   (A) Especies de *Corynebacterium*
   (B) *Staphylococcus epidermidis*
   (C) Especies de *Prevotella*
   (D) *Candida albicans*
   (E) Especies de *Lactobacillus*
2. Algunos microorganismos no se consideran miembros de la flora normal. Siempre se les considera patógenos. ¿Cuál de los siguientes microorganismos pertenece a esta categoría?
   (A) *Streptococcus pneumoniae*
   (B) *Escherichia coli*
   (C) *Mycobacterium tuberculosis*
   (D) *Staphylococcus aureus*
   (E) *Neisseria meningitidis*
3. Una niña de nueve años de edad presenta fiebre y dolor intenso en el lado derecho de la faringe. En la exploración física se observa enrojecimiento y edema del área periamigdalina derecha. Se diagnostica un absceso periamigdalino. Los microorganismos que probablemente se cultivarán son:
   (A) *Staphylococcus aureus*
   (B) *Streptococcus pneumoniae*
   (C) Especies de *Corynebacterium* y *Prevotella melaninogenica*
   (D) Flora bucal y nasal normal
   (E) Estreptococo viridans y *Candida albicans*

4. Un varón de 70 años de edad con antecedente de diverticulosis del colon sigmoides sufre repentinamente dolor abdominal en el cuadrante inferior izquierdo. Se acompaña de fiebre. El dolor cede gradualmente y es sustituido por un dolor sordo constante y dolor a la palpación abdominal. Se establece el diagnóstico de probable divertículo roto y el paciente es llevado al quirófano. Se confirma el diagnóstico de divertículo roto y se encuentra un absceso cerca del colon sigmoides. La bacteria más probable en el absceso es:
   (A) Flora normal mixta del aparato digestivo
   (B) Sólo *Bacteroides fragilis*
   (C) Sólo *Escherichia coli*
   (D) Sólo *Clostridium perfringens*
   (E) Sólo especies de *Enterococcus*
5. El tratamiento antimicrobiano reduce la cantidad de flora intestinal sensible y permite la proliferación de flora del colon relativamente resistente. ¿Cuál de las siguientes especies puede proliferar y producir una toxina que causa diarrea?
   (A) Especies de *Enterococcus*
   (B) *Staphylococcus epidermidis*
   (C) *Pseudomonas aeruginosa*
   (D) *Clostridium difficile*
   (E) *Bacteroides fragilis*
6. ¿Cuál de los siguientes microorganismos puede formar parte de la flora vaginal normal y causar meningitis en el recién nacido?
   (A) *Candida albicans*
   (B) Especies de *Corynebacterium*
   (C) *Staphylococcus epidermidis*
   (D) *Ureaplasma urealyticum*
   (E) Estreptococo del grupo B
7. ¿La placa dental y la enfermedad periodontal se pueden considerar como un continuo de qué tipo de proceso fisiológico?
   (A) Formación de biopelícula
   (B) Envejecimiento normal
   (C) Digestión anormal
   (D) Respuesta inmunitaria exagerada
   (E) Goma de mascar
8. ¿Cuál de los siguientes microorganismos se encuentra muy relacionado con la caries dental?
   (A) *Candida albicans*
   (B) *Streptococcus mutans*
   (C) *Prevotella melaninogenica*
   (D) *Neisseria subflava*
   (E) *Staphylococcus epidermidis*
9. El colon sigmoides contiene bacterias anaerobias como *Bacteroides fragilis* en una concentración aproximada de 10^{11}/g de heces fecales. ¿A qué concentración aparecen microorganismos facultativos como *Escherichia coli*?
   (A) 10^{11}/g
   (B) 10^{10}/g
   (C) 10^{9}/g
   (D) 10^{8}/g
   (E) 10^{7}/g
10. *Streptococcus pneumoniae* forma parte de la flora normal en 5 a 40% de las personas. ¿En qué sitio anatómico se puede encontrar?
   (A) Conjuntiva
   (B) Nasofaringe
   (C) Colon
   (D) Uretra
   (E) Vagina

Respuestas

1. E	5. D	9. D
2. C	6. E	10. B
3. D	7. A	
4. A	8. B	

BIBLIOGRAFÍA

Fredericks DN, Fielder TL, Marrazzo JM: Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. N Engl J Med 2005;353:1899.

Granato PA: Pathogenic and indigenous microorganisms of humans. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Hentges DJ: The anaerobic microflora of the human body. Clin Infect Dis 1993;16(Suppl 4):S175.

Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors): *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Elsevier, 2010.

O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO reports 2006; 7:688.

The pathogenesis of periodontal diseases. J Periodontol 1999;70:457.

Thomas JG, Nakaishi LA. Managing the complexity of a dynamic biofilm. JADA 2006;137:10S.

Turnbaugh PJ et al: The human microbiome project. Nature 2008;449:804.

CAPÍTULO

11

Bacilos grampositivos formadores de esporas: especies de *Bacillus* y *Clostridium*

Los bacilos grampositivos formadores de esporas son de las especies de *Bacillus* y *Clostridium*. Estos bacilos son universales y, debido a su capacidad para formar esporas, pueden vivir en el ambiente durante varios años. Las especies de *Bacillus* son aerobias, mientras que los clostridios son anaerobios.

De las muchas especies de *Bacillus* y géneros afines que aún no han sido bien clasificadas en la microbiología médica, la mayoría no causan enfermedades. Sin embargo, existen algunas especies que generan enfermedades importantes en los seres humanos. El carbunco, una enfermedad prototipo en la historia de la microbiología, es causado por *Bacillus anthracis*. Esta enfermedad sigue siendo importante en los animales y en ocasiones en los seres humanos y *B. anthracis* constituye un arma biológica poderosa. *Bacillus cereus* provoca intoxicación alimentaria y en ocasiones infecciones oculares y en otros sitios.

El género *Clostridium* es heterogéneo y se han descrito más de 190 especies. Sigue creciendo la lista de microorganismos patógenos y las especies más recientes aisladas a partir de heces fecales humanas tienen un potencial patógeno que aún no se ha establecido. Los clostridios causan varias enfermedades importantes producidas por toxinas: *Clostridium tetani,* tétanos; *Clostridium botulinum*, botulismo; *Clostridium perfringens*, gangrena gaseosa y *Clostridium difficile,* colitis seudomembranosa. También existen otros clostridios en las infecciones anaerobias mixtas en el ser humano (cap. 21).

ESPECIES DE *BACILLUS*

El género *Bacillus* comprende grandes bacilos aerobios grampositivos que se organizan en cadenas. La mayor parte de los miembros de este género es saprófita y vive en la tierra, agua y aire, y en la vegetación, como *Bacillus cereus* y *Bacillus subtilis*. Algunos son patógenos para los insectos. *B. cereus* puede crecer en los alimentos y producir una endotoxina o una toxina emética que genera intoxicación alimentaria. Estos microorganismos algunas veces producen enfermedades en las personas inmunodeprimidas (p. ej., meningitis, endocarditis, endoftalmitis, conjuntivitis o gastroenteritis aguda). *B. anthracis,* que causa el **carbunco**, es el principal microorganismo patógeno del género.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las células típicas miden 1×3 a 4 μm, poseen extremos cuadrados y se disponen en forma de cadenas largas; las esporas se ubican en el centro del bacilo inmóvil.

B. Cultivo

Las colonias de *B. anthracis* son redondas y tienen aspecto de "vidrio esmerilado" bajo la luz emitida. La hemólisis es rara con *B. anthracis* pero frecuente con *B. cereus* y los bacilos saprófitos. Disuelven la gelatina y su crecimiento en los cultivos de punción en agar es similar a un abeto invertido.

C. Características de crecimiento

Los bacilos saprófitos utilizan fuentes simples de nitrógeno y carbono para obtener energía y proliferar. Las esporas son resistentes a los cambios ambientales, soportan el calor seco y algunos desinfectantes químicos durante periodos moderados y persisten durante varios años en la tierra seca. Los productos animales contaminados con esporas de carbunco (p. ej., piel, cerdas, pelo, lana, hueso) se pueden esterilizar con autoclave.

BACILLUS ANTHRACIS

Patogenia

El carbunco es básicamente una enfermedad de los herbívoros: cabras, obejas, ganado vacuno, caballos, etc.; los demás animales (p. ej., ratas) son relativamente resistentes a la infección. El ser humano se infecta de manera incidental al tener contacto con los animales o sus productos infectados. En los animales, la vía de entrada es la boca y el aparato digestivo. Las esporas provenientes de la tierra contaminada penetran fácilmente cuando se ingieren con plantas espinosas o irritantes. En las personas la infección casi siempre se adquiere cuando las esporas penetran a través de la piel lesionada (carbunco cutáneo) o rara vez por las mucosas (carbunco digestivo) o por inhalación de las esporas (carbunco pulmonar).

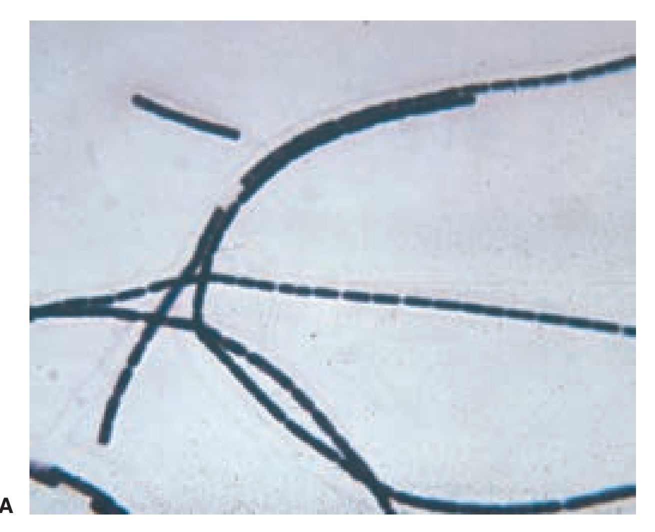
Las esporas germinan en el tejido en el sitio de entrada y la proliferación de los microorganismos vegetativos tiene como resultado la formación de un edema gelatinoso y congestión. Los bacilos se extienden a través de los vasos linfáticos hasta la circulación sanguínea y se multiplican libremente en la sangre y los tejidos poco antes y después de la muerte del animal.

B. anthracis (fig. 11-1) que no produce una cápsula no es virulento y no produce carbunco en los animales de laboratorio. La cápsula de ácido poli-D-glutámico es antifagocítica. El gen se ubica en el plásmido.

La toxina del carbunco consta de tres proteínas: antígeno protector (PA, *protective antigen*), factor de edema (EF, *edema*

factor) y factor mortal (LF, *lethal factor*). El PA se fija a determinados receptores celulares y después de su activación forma un conducto de membrana que intermedia la entrada de EF y LF a la célula. El EF es una adenilciclasa; junto con PA forma una toxina conocida como toxina edema. El LF con el PA forman la toxina mortal, que constituye el principal factor de virulencia principal y provoca la muerte de los animales y seres humanos infectados. Cuando se inyecta en animales de laboratorio (p. ej., ratas), la toxina mortal aniquila rápidamente al animal. Los genes de la toxina del carbunco se ubican en otro plásmido.

En el carbunco pulmonar (enfermedad del esquilador de ovejas) se inhalan las esporas provenientes de la pelusa de la lana, del pelo o de la piel, se depositan en los alvéolos y son fagocitadas por los micrófagos, luego son transportadas por el drenaje linfático hasta los ganglios linfáticos mediastínicos, donde germinan. Después hay producción de toxinas, lo cual genera mediastinitis hemorrágica y septicemia, que por lo general provocan rápidamente la muerte. En la septicemia por carbunco, el número de microorganismos en la sangre excede 10^7/ml poco antes de la muerte. En el brote de carbunco por inhalación de Sverdlovsk en 1979 y en los casos de inhalación por bioterrorismo en el año 2001 (cap. 48), la patogenia fue similar a la del carbunco por inhalación de productos animales.



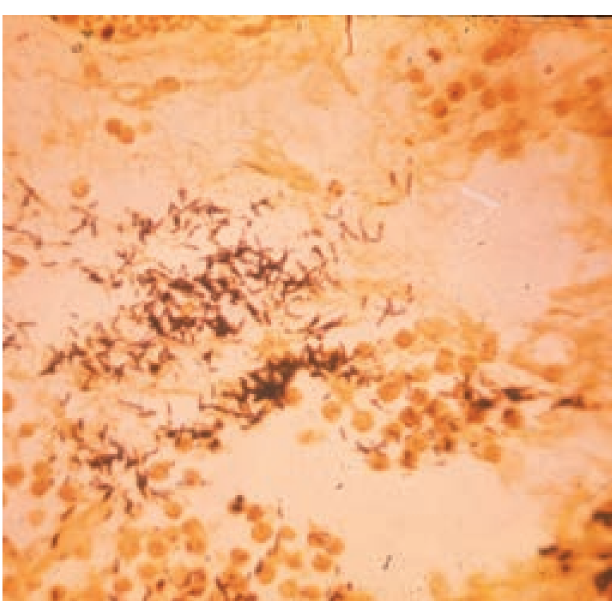


FIGURA 11-1 **A:** *Bacillus anthracis* en caldo de cultivo (amplificación original × 1 000). **B:** En tejido (amplificación original × 400. (Cortesía de PS Brachman.)

Patología

En los animales y seres humanos susceptibles, los microorganismos proliferan en el sitio de entrada. Las cápsulas permanecen íntegras y los microorganismos se rodean de gran cantidad de líquido proteináceo que contiene unos cuantos leucocitos a partir de los cuales se diseminan con rapidez y alcanzan la circulación sanguínea.

En los animales resistentes, los microorganismos proliferan durante unas cuantas horas y en ese lapso hay una acumulación masiva de leucocitos. Las cápsulas se desintegran y desaparecen gradualmente. Los microorganismos permanecen circunscritos.

Manifestaciones clínicas

En el ser humano, cerca de 95% de los casos corresponde a carbunco cutáneo y 5% a carbunco espiratorio. El carbunco digestivo es muy raro; sólo se ha descrito en África, Asia y Estados Unidos cuando las personas han consumido carne de animales infectados.

Los episodios bioterroristas ocurridos en otoño del año 2001 (cap. 48) tuvieron como resultado 22 casos de carbunco: 11 por inhalación y 11 cutáneos. Cinco pacientes con carbunco por inhalación murieron. Todos los demás pacientes sobrevivieron.

El carbunco cutáneo por lo general aparece en superficies expuestas de los brazos o manos, seguidos por orden de frecuencia por la cara y el cuello. Entre uno y siete días después de la penetración de los microorganismos o esporas a través de un rasguño, aparece una pápula pruriginosa. Al principio es similar a la mordedura de un insecto. Sin embargo, la pápula se transforma rápidamente en vesícula o un anillo pequeño de vesículas que se unen formando una úlcera necrótica. Las lesiones miden entre 1 y 3 cm de diámetro y poseen una escara negra central característica. Se acompañan de edema pronunciado. Algunas veces también existe linfangitis y linfadenopatía y signos y síntomas generales como fiebre, malestar general y cefalea. Después de siete a 10 días, la escara alcanza su máximo desarrollo. Finalmente se seca, se debilita y se desprende. La cicatrización se lleva a cabo por granulación y deja una cicatriz. Algunas veces la lesión tarda varias semanas en cicatrizar y el edema en desaparecer. La antibioticoterapia no modifica la progresión natural de la enfermedad. Hasta en 20% de los pacientes el carbunco cutáneo genera septicemia, las consecuencias de una infección generalizada, incluida meningitis, y la muerte.

El periodo de incubación del carbunco espiratorio puede ser hasta de seis semanas. Las primeras manifestaciones clínicas son las de necrosis hemorrágica pronunciada y edema mediastínico. En algunos pacientes el dolor retroesternal es intenso y en la radiografía de tórax se observa ensanchamiento pronunciado del mediastino. Una vez que se extiende a la pleura, aparecen derrames pleurales hemorrágicos; la tos es secundaria a sus efectos sobre la tráquea. El siguiente paso es la sepsis y el micoorganismo se disemina por vía hematógena hacia el aparato digestivo provocando úlceras intestinales o hacia las meninges causando

meningitis hemorrágica. La tasa de mortalidad del carbunco por inhalación es elevada cuando ha existido un contacto previo; es mayor cuando el diagnóstico no se sospecha desde el principio.

Los animales adquieren el carbunco al ingerir esporas y posteriormente los microorganismos se diseminan desde el aparato digestivo. Esto es raro en el ser humano y el carbunco digestivo es muy poco frecuente. Algunos signos clínicos son dolor abdominal, vómito y diarrea hemorrágica.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Las muestras que se examinan son líquido o pus de una lesión circunscrita, sangre y esputo. Los frotis teñidos de la lesión circunscrita o la sangre de animales muertos a menudo exhiben cadenas de grandes bacilos grampositivos. El carbunco se identifica en frotis secos por medio de técnicas de tinción inmunofluorescente.

Cuando se cultivan en placas de agar sangre, los microorganismos producen colonias no hemolíticas de color gris o blanco con una textura rugosa y aspecto de vidrio esmerilado. Algunas veces producen prolongaciones con forma de coma (cabeza de medusa) en la colonia. La tinción de Gram exhibe bacilos grampositivos grandes. No producen fermentación de carbohidratos. En medio semisólido, los bacilos del carbunco son inmóviles, mientras que los microorganismos afines (p. ej., *B. cereus*) presentan movilidad por "amontonamiento". Los cultivos virulentos de carbunco matan ratones o cobayos al ser inyectados por vía intraperitoneal. Para demostrar la presencia de una cápsula es necesario cultivarlos en un medio que contenga bicarbonato en bióxido de carbono al 5 a 7%. Para identificar al microorganismo algunas veces es útil provocar lisis por medio de un bacteriófago-γ específico para carbunco.

Se ha diseñado la prueba de enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA) para medir los anticuerpos contra las toxinas del edema y las toxinas mortales, pero esta prueba no se ha estudiado en forma extensa. Se debe llevar a cabo en suero de la etapa aguda y convaleciente con un intervalo de cuatro semanas. La prueba es positiva cuando hay un cambio del cuádruple o un solo resultado con título mayor de 1:32. En algunos laboratorios de salud pública, también se realizan análisis de amplificación de ácidos nucleicos. Los laboratorios clínicos que obtienen bacilos grampositivos grandes de la sangre, líquido cefalorraquídeo o lesiones cutáneas sospechosas, cuando son compatibles desde el punto de vista fenotípico a la descripción de *B. anthracis* como ya se mencionó, deben notificar de inmediato al laboratorio de salud pública correspondiente y enviar los microorganismos para su confirmación.

Resistencia e inmunidad

La vacunación para prevenir el carbunco se basa en los experimentos clásicos de Louis Pasteur. En 1881, este científico demostró que los cultivos en caldo a 42 a 52°C durante varios meses pierden gran parte de su virulencia y se pueden inyectar en ganado vacuno o bovino sin generar la enfermedad. Posteriormente se comprobó que estos animales eran inmunes. También es posible inducir inmunidad activa al carbunco en animales susceptibles vacunándolos con bacilos vivos atenuados, suspensiones de esporas o PA proveniente de filtrados de cultivos. Los animales que pastan en zonas en donde se sabe que prevalece el carbunco deben ser vacunados cada año.

Cuatro países producen vacunas contra el carbunco. Rusia y China utilizan una vacuna a base de esporas atenuadas que se administra por escarificación. En Estados Unidos y Gran Bretaña se utiliza un producto filtrado de cultivos adsorbidos en hidróxido de aluminio. La vacuna aprobada actualmente por la *U.S. Food and Drug Administration* contiene un filtrado acelular de una cepa toxígena, no virulenta, no encapsulada de *B. anthracis*. Se desconoce la cantidad de PA que contiene cada dosis, pero incluye los tres componentes de la toxina (LF, EF y PA) y se adsorbe en hidróxido de aluminio. El esquema de dosificación es a las 0, 2 y 4 semanas y después a las 6, 12 y 18 semanas seguido de refuerzos anuales. Esta vacuna se encuentra disponible exclusivamente para el *U.S. Department of Defense* y para las personas con riesgo de sufrir contactos repetidos con *B. anthracis*. En vista de la controversia que existe en el ejército estadounidense con relación a la vacuna actual contra el carbunco y su empleo en regiones donde existe la posibilidad de una guerra biológica, actualmente existe una vacuna nueva de PA recombinante (rPA) adsorbida en hidróxido de aluminio que se encuentra en fase II de estudios clínicos. Se ha demostrado que es muy bien tolerada y altamente inmunógena (Campbell JD et al. Vaccin. 2007;3:205-11).

Tratamiento

Muchos antibióticos son efectivos contra el carbunco en el ser humano, pero el tratamiento debe empezar desde las primeras etapas. Se recomienda utilizar ciprofloxacina; antiguamente se utilizaba penicilina G con gentamicina o estreptomicina.

En el caso de contacto potencial con *B. anthracis* como arma biológica, la profilaxis con ciprofloxacina o doxiciclina se prolonga durante cuatro semanas mientras se administran tres dosis de vacunas, o durante ocho semanas si no se administra vacuna.

Otros bacilos grampositivos como *B. cereus* son resistentes a la penicilina gracias a que producen β-lactamasa. En estos casos, las alternativas efectivas son doxiciclina, eritromicina o ciprofloxacina.

Epidemiología, prevención y control

La tierra se contamina con esporas de carbunco provenientes de los cuerpos de animales muertos. Estas esporas permanecen viables durante varias décadas. Las esporas germinan en la tierra a un pH de 6.5 cuando la temperatura es adecuada. Los animales que pastan y que se infectan a través de las mucosas lesionadas sirven para perpetuar la cadena de la infección. El contacto con los animales infectados o con su piel, pelo y cerdas, constituye el origen de la infección en el ser humano. Algunas medidas de control son: 1) eliminación de los cadáveres de animales por cremación o enterrarlos en pozos de cal profundos; 2) descontaminación (casi siempre por medio de autoclave) de los productos animales; 3) uso de ropa protectora y guantes al manipular materiales potencialmente infectados, y 4) inmunización de animales domésticos con vacunas de bacilos vivos atenuados. Las personas con un riesgo laboral elevado deben ser vacunadas.

BACILLUS CEREUS

La intoxicación alimentaria causada por *B. cereus* es de dos tipos: la variedad emética, desencadenada por ingerir arroz frito, y la variedad diarreica, por ingerir platillos con carne y salsas. *B. cereus* produce toxinas que generan una enfermedad que es más

una intoxicación que una infección transmitida por los alimentos. La variedad emética se manifiesta por náusea, vómito, cólicos abdominales y en ocasiones diarrea y remite espontáneamente con una recuperación dentro de las primeras 24 h. Empieza entre 1 y 5 h después de ingerir arroz y algunas veces platillos a base de pasta. *B. cereus* es un microorganismo de la tierra que contamina con frecuencia al arroz. Cuando se cocinan grandes cantidades de arroz y se dejan enfriar lentamente, las esporas de *B. cereus* germinan y las células vegetativas producen la toxina durante la fase de proliferación logarítmica o durante la esporulación. El periodo de incubación de la variedad diarreica es de 1 a 24 h y se manifiesta por diarrea abundante con dolor y cólicos abdominales; rara vez se acompaña de fiebre y vómito. La enterotoxina viene preformada en el alimento o bien se produce en el intestino. La presencia de *B. cereus* en una evacuación del paciente no basta para establecer el diagnóstico de esta enfermedad, puesto que la bacteria puede estar presente en las muestras normales de heces fecales; una concentración de 10^5 bacterias o más por gramo de alimento se considera diagnóstica.

B. cereus es una causa importante de infecciones oculares, queratitis pronunciada, endoftalmitis y panoftalmitis. Por lo general el microorganismo se introduce en el ojo a través de cuerpos extraños por un traumatismo. *B. cereus* también se ha vinculado con infecciones circunscritas e infecciones generalizadas, incluidas endocarditis, meningitis, osteomielitis y neumonía; la presencia de un dispositivo médico o el uso de fármacos intravenosos predisponen a estas infecciones. *B. cereus* es resistente a una gran variedad de antibióticos como penicilinas y cefalosporinas. Las infecciones graves que no se transmiten por los alimentos se deben tratar con vancomicina o clindamicina con o sin algún aminoglucósido.

Las demás especies de *Bacillus* pocas veces provocan enfermedad en el ser humano. Es difícil distinguir una contaminación superficial por *Bacillus* de una enfermedad genuina causada por estos microorganismos. Cinco especies de *Bacillus* (*B. thuringiensis, B. popilliae* [ahora llamado *Paenibacillus popilliae*], *B. sphaericus, B. larvae* y *B. lentimorbus* [*Paenibacillus lentimorbus*]) son patógenos para los insectos y algunos se han utilizado como insecticidas comerciales. Se han introducido genes de *B. thuringiensis* que codifican compuestos insecticidas en el material genético de algunas plantas comerciales. Esto ha causado gran inquietud entre los activistas ambientales que se preocupan por las plantas y productos alimenticios sometidos a ingeniería genética.

ESPECIES DE *CLOSTRIDIUM*

Los clostridios son grandes bacilos anaerobios, grampositivos, móviles. Muchos de ellos descomponen proteínas o forman toxinas y algunos llevan a cabo ambas acciones. Su hábitat es la tierra o el intestino de animales y seres humanos, donde viven como saprófitos. Algunos de los clostridios patógenos son los que generan **botulismo**, **tétanos**, **gangrena gaseosa** y **colitis seudomembranosa**.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las esporas de los clostridios por lo general son más amplias que el diámetro de los bacilos a partir de los cuales se forman. En las diversas especies, la espora tiene una ubicación central, subterminal o terminal. La mayor parte de las especies de clostridios es móvil y posee flagelos peritricos. En la figura 11-2 se muestra una especie de *Clostridium* con esporas terminales.

B. Cultivo

Los clostridios son anaerobios y proliferan en un ambiente anaerobio; muy pocas especies son aerotolerantes y crecen en el aire ambiental. En el capítulo 21 se describen las características del cultivo anaerobio. En general, los clostridios crecen muy bien en el medio enriquecido con sangre que se usa para cultivar anaerobios y en otros medios que se usan también para anaerobios.

C. Formas de colonias

Algunos clostridios producen grandes colonias en relieve (p. ej., *C. perfringens*); otras producen colonias más pequeñas (p. ej., *C. tetani*). Ciertos clostridios forman colonias que se diseminan en la superficie de agar. Muchos clostridios producen una zona de hemólisis en agar sangre. *C. perfringens* produce de forma característica una zona doble de hemólisis alrededor de las colonias.

D. Características de crecimiento

Los clostridios pueden fermentar diversos carbohidratos; muchos de ellos digieren proteínas. Otros más convierten la leche en ácido, que es digerido por otras y sufre "fermentación tormentosa" (es decir, el coágulo es disuelto por el gas) con un tercer grupo (p. ej., *C. perfringens*). Las diversas especies producen distintas enzimas (véase más adelante).

E. Características antigénicas

Los clostridios comparten algunos antígenos pero también poseen antígenos solubles específicos que permiten agruparlos por medio de pruebas de precipitina.

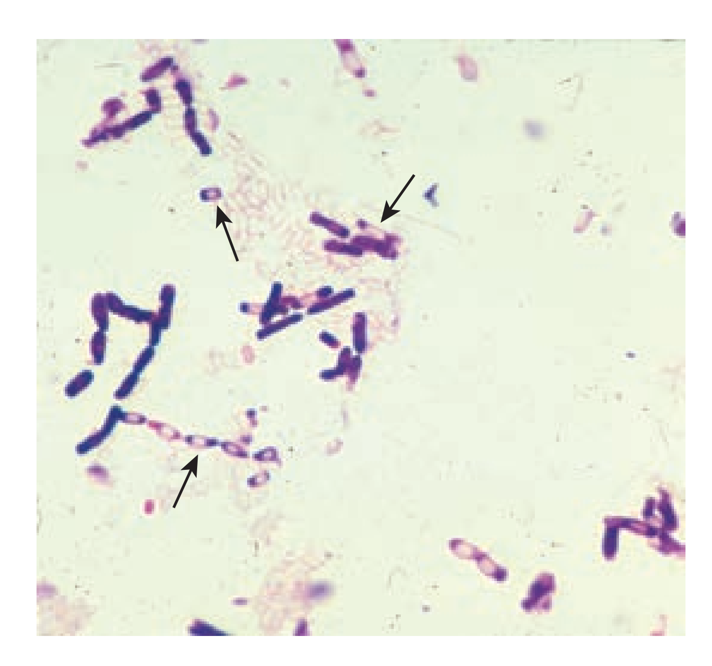


FIGURA 11-2 Tinción de Gram de *Clostridium*. Se observan algunos bacilos grampositivos. Muchos de ellos forman cadenas. Algunos tienen esporas que no se tiñen o adquieren forma ovalada y son transparentes (*flechas*).

CLOSTRIDIUM BOTULINUM

C. botulinum, que causa el **botulismo**, tiene una distribución mundial. Habita en la tierra y en ocasiones en las heces fecales de algunos animales.

Las variedades de *C. botulinum* se distinguen por el tipo antigénico de la toxina que producen. Las esporas de este microorganismo son muy resistentes al calor y soportan hasta 100°C durante varias horas. Su termorresistencia disminuye con un pH ácido o una concentración elevada de sal.

Toxina

Durante la proliferación de *C. botulinum* y durante la autólisis de la bacteria se libera toxina hacia el ambiente. Se conocen siete variedades antigénicas de la toxina (A-G). Los tipos A, B y E (y en ocasiones F) constituyen las causas principales de la enfermedad en el ser humano. Los tipos A y B se han vinculado con gran variedad de alimentos y el tipo E principalmente con los productos de la pesca. El tipo C es el botulismo de las aves; el tipo D causa botulismo en mamíferos. La toxina es una proteína con un peso molecular de 150 000 que se protealiza en dos fragmentos con peso molecular de 100 000 y 50 000 unidas por un puente disulfuro. La toxina botulínica se absorbe a partir del intestino y se une a receptores de las membranas presinápticas en las neuronas motoras del sistema nervioso periférico y los pares craneales. La proteólisis, a través de la cadena ligera de la toxina botulínica, de las proteínas efectoras SNARE en las neuronas inhibe la liberación de acetilcolina en la sinapsis, lo que tiene como resultado ausencia de contracción muscular y parálisis. Las proteínas SNARE son sinaptobrevina, SNAP 25 y sintaxina. Las toxinas de *C. botulinum* tipos A y E fragmentan a la SNAP 25 con peso molecular de 25 000. La toxina tipo B fragmenta a la sinaptobrevina. Las toxinas de *C. botulinum* constituyen una de las sustancias más tóxicas conocidas: la dosis mortal para el ser humano es quizá de 1 a 2 μg/kg. Estas toxinas se destruyen por medio de calor durante 20 minutos a 100°C. También se ha demostrado que algunas cepas raras de *C. butyricum* y *C. baratii* producen neurotoxina botulínica y causan botulismo en el ser humano. Las cepas que producen toxinas E y F generan botulismo infantil.

Patogenia

A pesar de que algunos casos de infección de heridas y botulismo han sido atribuidos a *C. botulinum* tipos A y B, por lo general la enfermedad no es una infección. Por el contrario, es una intoxicación secundaria a la ingestión de alimentos en los que *C. botulinum* ha proliferado y producido toxinas. Las procedencias más frecuentes son alimentos alcalinos condimentados, ahumados, empacados al vacío o enlatados que se consumen sin cocinar. En estos alimentos germinan las esporas de *C. botulinum*; en un ambiente anaerobio, las formas vegetativas proliferan y producen toxina.

En el botulismo infantil, el vehículo más frecuente de la infección es la miel. La patogenia difiere de la manera como el adulto contrae la infección. El lactante ingiere las esporas de *C. botulinum* (o *C. butyricum* o *C. baratii*) y las esporas germinan dentro del aparato intestinal. Las células vegetativas producen toxinas conforme se multiplican y la neurotoxina es absorbida hacia la circulación.

La toxina actúa bloqueando la liberación de acetilcolina a nivel de las sinapsis y uniones neuromusculares (véase antes). El resultado es parálisis flácida. Tanto la electromiografía como las pruebas de fuerza con edrofonio son típicas.

Manifestaciones clínicas

Los síntomas empiezan entre 18 y 24 horas después de ingerir el alimento tóxico, con alteraciones visuales (falta de coordinación de los músculos oculares, diplopía), incapacidad para deglutir y dificultad para hablar. Los signos de parálisis bulbar son progresivos y la muerte es resultado de parálisis respiratoria o paro cardiaco. Los síntomas digestivos por lo general son irrelevantes. Tampoco se encuentra fiebre. El paciente permanece consciente hasta poco antes de morir. La tasa de mortalidad es elevada. Los pacientes que se recuperan no producen antitoxina en la sangre.

En Estados Unidos, el botulismo infantil es tan frecuente o más que la variedad clásica de botulismo paralítico producido por la ingestión de alimentos contaminados con la toxina. Los lactantes en los primeros meses de vida manifiestan alimentación deficiente, debilidad y signos de parálisis (bebé hipotónico). El botulismo infantil en ocasiones es causa de síndrome de muerte súbita infantil. *C. botulinum* y la toxina del botulismo se identifican en las heces fecales pero no en el suero.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Con frecuencia la toxina se identifica en el suero del paciente y algunas veces en el alimento sobrante. Los ratones que reciben una inyección intraperitoneal mueren rápidamente. La variedad antigénica de la toxina se identifica por medio de neutralización con una toxina específica en ratones. *C. botulinum* se puede cultivar a partir de los restos del alimento para probar la producción de toxina, pero rara vez se lleva a cabo y su importancia es cuestionable. En el botulismo infantil, se puede demostrar la presencia de *C. botulinum* y toxina en el contenido intestinal pero no en el suero. La presencia de la toxina se demuestra por medio de hemaglutinación pasiva o radioinmunoanálisis.

Tratamiento

Se han preparado antitoxinas potentes contra las tres variedades de toxina botulínica en caballos. Puesto que por lo general se desconoce la variedad que causa cada caso, es necesario administrar la antitoxina trivalente (A, B, E) de inmediato por vía intravenosa con las precauciones acostumbradas. Cuando es necesario, se debe mantener una ventilación adecuada con un respirador. Estas medidas han reducido la mortalidad de 65% a menos de 25%.

La mayoría de los lactantes con botulismo se recupera únicamente con medidas paliativas, pero se recomienda el tratamiento con antitoxinas.

Epidemiología, prevención y control

Puesto que las esporas de *C. botulinum* se distribuyen ampliamente en la tierra, a menudo contaminan vegetales, frutas y otros materiales. Hubo un brote grande generado en un restaurante cuya causa fue el consumo de cebollas salteadas. Cuando este

tipo de alimento se enlata o conserva de otra manera, se debe calentar lo suficiente como para asegurar la destrucción de las esporas o bien se debe hervir durante 20 minutos antes de consumirlo. Los reglamentos estrictos para el enlatado comercial han reducido considerablemente el peligro de los brotes, pero algunos alimentos comerciales han causado muertes. Uno de los factores de riesgo principales del botulismo son los alimentos enlatados en casa, en especial ejotes, maíz, pimientos, aceitunas, chícharos, pescado ahumado o pescado fresco empacado al vacío en bolsas de plástico. Algunas veces los alimentos tóxicos se encuentran descompuestos y rancios y las latas se "hinchan" o bien su aspecto parece inofensivo. El riesgo de los alimentos enlatados en el hogar se reduce si el alimento se hierve durante más de 20 minutos antes de su consumo. En Sudáfrica se utilizan toxoides para vacunar de manera activa al ganado.

La toxina botulínica se considera una sustancia muy importante para el bioterrorismo y la guerra biológica (cap. 48).

CLOSTRIDIUM TETANI

C. tetani, el agente causal de **tétanos**, tiene distribución mundial y se encuentra en la tierra y heces fecales de caballos y otros animales. Es posible distinguir distintos tipos de *C. tetani* por medio de antígenos flagelares específicos. Todos ellos comparten un antígeno O (somático) que puede estar enmascarado y todos producen el mismo tipo antigénico de neurotoxina, la tetanoespasmina.

Toxina

Las células vegetativas de *C. tetani* producen la toxina tetanoespasmina (PM 1 50 000) que es fragmentada por una proteasa bacteriana hasta formar dos péptidos (PM de 50 000 y 100 000) unidos por un puente disulfuro. Al principio la toxina se fija a los receptores de las membranas presinápticas de las neuronas motoras. Posteriormente emigran por el sistema de transporte axonal retrógrado hasta los cuerpos celulares de estas neuronas, la médula espinal y el tallo cerebral. La toxina se difunde hasta las terminales de las células inhibidoras, incluidas tanto las interneuronas glicinérgicas como las neuronas secretoras de ácido γ-aminonobutírico en el tronco cerebral. La toxina degrada a la sinaptobrevina, proteína necesaria para la aproximación de las vesículas neurotransmisoras a la membrana presináptica. Se bloquea la liberación de glicina y ácido γ-aminobutírico pero no se inhiben las neuronas motoras. El resultado es hiperreflexia, espasmos musculares y parálisis espástica. Una cantidad mínima de toxina es mortal para el ser humano.

Patogenia

C. tetani no es un microorganismo invasor. La infección permanece circunscrita y se encuentra el área de tejido desvitalizado (herida, quemadura, lesión, muñón umbilical, sutura quirúrgica) donde se han introducido las esporas. El volumen del tejido infectado es pequeño y la enfermedad es casi por completo una toxemia. La germinación de la espora y la proliferación de microorganismos vegetativos que producen toxina se facilitan por: 1) el tejido necrótico; 2) sales de calcio, y 3) otras infecciones piógenas concomitantes, todas las cuales ayudan al establecimiento de un potencial reducido de oxidación-reducción.

La toxina liberada a partir de las células vegetativas alcanza el sistema nervioso central y se fija rápidamente a los receptores de la médula espinal y tronco cerebral ejerciendo las acciones antes descritas.

Manifestaciones clínicas

El periodo de incubación varía de cuatro a cinco días hasta varias semanas. La enfermedad se caracteriza por contracción tónica de los músculos voluntarios. Con frecuencia los espasmos musculares abarcan primero el área de la lesión e infección y a continuación los músculos de la quijada (trismo), que se contraen de manera tal que no es posible abrir la boca. De manera gradual abarca a otros músculos voluntarios, generando espasmos tónicos. Cualquier estímulo externo puede precipitar un espasmo muscular generalizado tetánico. El paciente se encuentra consciente y el dolor en ocasiones es intenso. La muerte casi siempre es secundaria a la interferencia con la mecánica de la respiración. La tasa de mortalidad en el tétanos generalizado es muy elevada.

Diagnóstico

El diagnóstico depende de las manifestaciones clínicas y el antecedente de una lesión, aunque sólo 50% de los pacientes con tétanos tiene una lesión que le ha obligado a buscar atención médica. El diagnóstico diferencial principal del tétanos es la intoxicación con estricnina. El cultivo anaerobio del tejido tomado de la herida contaminada exhibe algunas veces *C. tetani*, pero no se debe diferir la antitoxina preventiva o terapéutica en espera de esta demostración. La confirmación de *C. tetani* depende de la producción de toxina y su neutralización a través de una antitoxina específica.

Prevención y tratamiento

Los resultados del tratamiento del tétanos son poco satisfactorios. Por lo tanto, lo más importante es la prevención. La prevención del tétanos depende de: 1) vacunación activa con toxoide; 2) atención adecuada de las heridas contaminadas con tierra, etc; 3) uso profiláctico de antitoxina, y 4) administración de penicilina.

La administración intramuscular de 250 a 500 U de antitoxina humana (inmunoglobulina tetánica) ofrece una protección generalizada adecuada (0.01 unidades o más por mililitro de suero) durante dos a cuatro semanas. Neutraliza a la toxina que no se ha fijado al tejido nervioso. La profilaxis con antitoxina se debe acompañar de vacunación activa con toxoide tetánico.

Los pacientes que manifiestan síntomas de tétanos deben recibir relajantes musculares, sedantes y respiración asistida. Algunas veces reciben dosis muy elevadas de antitoxina (3 000 a 10 000 U de inmunoglobulina tetánica) por vía intravenosa con el fin de neutralizar la toxina que no se ha fijado al tejido nervioso. Sin embargo, la eficacia de la antitoxina para el tratamiento es incierta con excepción del tétanos neonatal, en el cual muchas veces salva la vida.

La desbridación quirúrgica es indispensable puesto que elimina el tejido necrótico necesario para la proliferación del microorganismo. No se ha comprobado que el oxígeno hiperbárico sea de utilidad.

La penicilina inhibe con eficacia la proliferación de *C. tetani* y detiene la producción ulterior de toxina. Los antibióticos también ayudan a regular las infecciones piógenas concomitantes.

Cuando una persona previamente vacunada sufre una herida potencialmente peligrosa, se debe inyectar otra dosis de toxoide para estimular de nuevo la producción de antitoxina. Esta inyección de "recuerdo" de toxoide se acompaña de una dosis de antitoxina cuando el paciente no ha sido vacunado recientemente, no ha recibido refuerzos o si se desconocen las vacunas precedentes.

Control

El tétanos es una enfermedad completamente prevenible. La vacunación activa universal con toxoide tetánico debe ser obligatoria. El toxoide tetánico se produce destoxificando la toxina con formalina y luego concentrándola. Se utilizan toxoides adsorbidos con sales de aluminio. El régimen inicial de vacunación comprende tres inyecciones, seguidas de otra dosis aproximadamente un año después. Todos los niños se deben vacunar por primera vez durante el primer año de vida. Al entrar a la escuela se les debe administrar un "refuerzo". Posteriormente, los refuerzos se aplican cada 10 años para mantener una concentración sérica mayor de 0.01 unidades de antitoxina por mililitro. En los niños pequeños, el toxoide tetánico suele combinarse con toxoide diftérico y vacuna acelular contra tos ferina.

No es posible llevar a cabo medidas de control por la gran diseminación del microorganismo en la tierra y la supervivencia tan prolongada de sus esporas.

CLOSTRIDIOS QUE CAUSAN INFECCIONES INVASORAS

Numerosos clostridios productores de toxinas (*C. perfringens* y clostridios afines) (fig. 11-3) causan infecciones invasoras (incluidas la **mionecrosis** y **gangrena gaseosa**) cuando se introducen en el tejido lesionado. Aproximadamente 30 especies de clostridios tienen este efecto, pero la más frecuente en las enfermedades invasoras es *C. perfringens* (90%). Una causa frecuente de intoxicación alimentaria es la enterotoxina de *C. perfringens.*

Toxinas

Los clostridios invasores producen una gran variedad de toxinas y enzimas que permiten la diseminación de la infección. Muchas de estas toxinas tienen propiedades mortales, necrosantes y hemolíticas. En algunos casos, la toxina presenta distintas propiedades. En otros casos, son secundarias a diversas entidades químicas. La toxina α de *C. perfringens* tipo A es una lecitinasa y su acción mortal es directamente proporcional a la velocidad con la que fragmenta a la lecitina (componente importante en las membranas celulares) para producir fosforilcolina y diglicérido. La toxina theta tiene efectos hemolíticos y necrosantes similares, pero no es una lecitinasa. También produce DNasa y hialuronidasa, una colagenasa que digiere la colágena del tejido subcutáneo y del músculo.

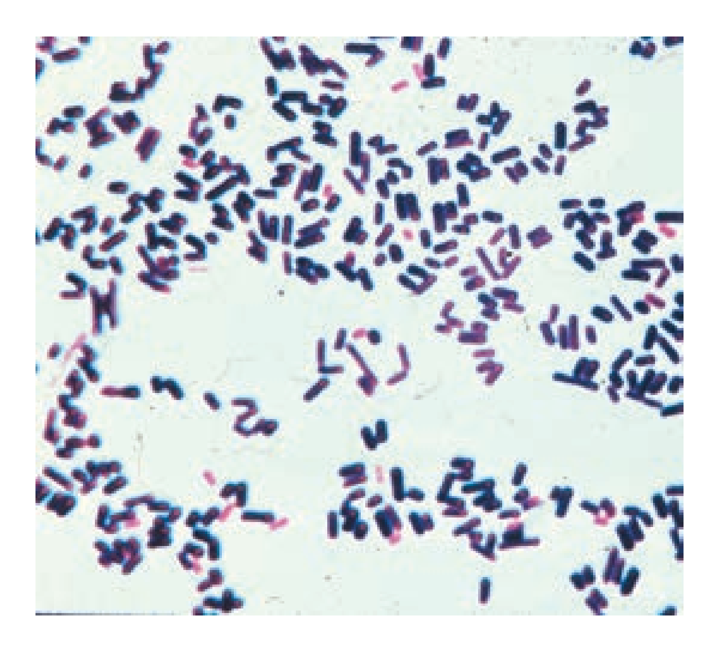


FIGURA 11-3 Bacilo de la gangrena gaseosa. *Clostridium perfringens* no suele formar esporas cuando se cultiva en medios de laboratorio.

Algunas cepas de *C. perfringens* producen una enterotoxina potente, especialmente cuando prolifera en platillos a base de carne. Cuando se ingieren más de 10^8 células vegetativas y éstas esporulan en el intestino, se forma enterotoxina. La enterotoxina (PM 35 000) es una proteína que forma parte no esencial del revestimiento de la espora; es distinta a las demás toxinas de clostridios. Induce diarrea intensa entre 6 y 18 h después. La acción de la enterotoxina de *C. perfringens* comprende hipersecreción pronunciada en el yeyuno e íleon, con eliminación de líquidos y electrólitos en la diarrea. Otros síntomas menos frecuentes son náusea, vómito y fiebre. Esta enfermedad es similar a la que causa *B. cereus* y tiende a resolverse espontáneamente.

Patogenia

En las infecciones invasoras por clostridios, las esporas alcanzan los tejidos por contaminación de las áreas traumatizadas (tierra, heces fecales) o a partir del aparato intestinal. Las esporas germinan a un potencial de oxidación-reducción bajo; las células vegetativas se multiplican, fermentan los carbohidratos existentes en los tejidos y producen gas. La distensión de los tejidos y su interferencia con la irrigación, además de la secreción de toxina necrosante y hialuronidasa, favorecen la diseminación de la infección. La necrosis hística se extiende, proporcionando una oportunidad para una mayor proliferación bacteriana, anemia hemolítica y, finalmente, toxemia grave y muerte.

En la gangrena gaseosa (mionecrosis por clostridios) la infección es mixta. Además de clostridios tóxicos, existen clostridios proteolíticos y diversos cocos y microorganismos gramnegativos. *C. perfringens* habita en el aparato genital de 5% de las mujeres. Antes de legalizar el aborto en Estados Unidos, se producían infecciones uterinas por clostridios después de los abortos instrumentales. *Clostridium sordellii* tiene muchas de las propiedades de *C. perfringens.* Se ha informado

de *C. sordellii* como la causa del síndrome de choque tóxico después del aborto médico con mifepristona y misoprostol intravaginal. Está implicada la infección endometrial con este microorganismo. En los pacientes con cáncer es frecuente la bacteriemia por clostridios. En Nueva Guinea, *C. perfringens* tipo C produce una enteritis necrosante (que en los niños tiene una mortalidad elevada). Al parecer la vacunación con toxoide tipo C es útil para prevenirla.

Manifestaciones clínicas

Desde una herida contaminada (es decir, fractura compuesta, útero puerperal), la infección se disemina en uno a tres días hasta producir crepitación en el tejido subcutáneo y músculo, una secreción fétida, necrosis rápidamente progresiva, fiebre, hemólisis, toxemia, choque y muerte. El tratamiento se lleva a cabo operando lo más pronto posible (amputación) y con antibióticos. Hasta el advenimiento de un tratamiento específico, el único tratamiento era la amputación inmediata. Algunas veces la infección provoca únicamente una fascitis anaerobia o celulitis.

La intoxicación alimentaria por *C. perfringens* casi siempre es producida por la ingestión de un gran número de clostridios que han proliferado en platillos calientes a base de carne. La toxina se forma cuando los microorganismos esporulan en el intestino y la diarrea comienza, casi siempre sin vómito ni fiebre, en un lapso de 6 a 18 h. La duración de esta enfermedad es de uno a dos días.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Las muestras comprenden material de las heridas, pus y tejido. La presencia de bacilos grampositivos grandes en los frotis sometidos a tinción de Gram sugiere clostridios de gangrena gaseosa; no suele haber esporas.

El material se inocula en medio con carne picada y glucosa y medio de tioglicolato, así como en placas de agar sangre y se incuba en forma anaerobia. El crecimiento de uno de los medios se transfiere a leche. Si el coágulo es degradado por gas en 24 h, sugiere *C. perfringens.* Una vez que se han obtenido cultivos puros seleccionando las colonias de las placas de agar sangre incubadas en forma anaerobia, se identifican por medio de reacciones bioquímicas (diversos carbohidratos en el medio de tioglicato, acción sobre la leche), hemólisis y formas de las colonias. La actividad de la lecitinasa se evalúa por el precipitado que se forma alrededor de las colonias en medio con yema de huevo. La identificación final depende de la producción de toxinas y su neutralización por medio de una antitoxina específica. *C. perfringens* rara vez produce esporas cuando se cultiva en agar en el laboratorio.

Tratamiento

El aspecto más importante del tratamiento es la desbridación quirúrgica inmediata y extensa del área afectada y la escisión de todo el tejido desvitalizado, donde los microorganismos tienden a proliferar. Al mismo tiempo se empiezan a administrar antimicrobianos, en especial penicilina. El oxígeno hiperbárico tiene cierta utilidad en el tratamiento médico de las infecciones hísticas por clostridios. Se dice que "destoxifica" a los pacientes con rapidez. Existen antitoxinas contra las toxinas de *C. perfringens, Clostridium novyi, Clostridium histolyticum* y *Clostridium septicum*, por lo general en forma de inmunoglobulinas concentradas. También se ha utilizado la antitoxina polivalente que contiene anticuerpos contra varias toxinas. Si bien esta antitoxina en ocasiones se administra en personas con heridas contaminadas que contienen abundante tejido desvitalizado, no se ha demostrado que sea efectiva. La intoxicación alimentaria por enterotoxina de *C. perfringens* por lo general sólo requiere medidas paliativas.

Prevención y control

Las mejores medidas preventivas existentes son la limpieza inmediata y adecuada de las heridas contaminadas y la desbridación quirúrgica, combinadas con la administración de antimicrobianos contra clostridios (p. ej., penicilina). No se debe confiar en las antitoxinas. A pesar de que se han preparado toxoides para la vacunación activa, no se han utilizado en la práctica.

CLOSTRIDIUM DIFFICILE Y ENFERMEDADES DIARREICAS

Colitis seudomembranosa

La colitis seudomembranosa se diagnostica al detectar una o ambas toxinas de *C. difficile* en las heces fecales y al observar por medio de endoscopia seudomembranas o microabscesos en los pacientes con diarrea que han recibido antibióticos. Las placas y microabscesos a menudo se circunscriben en un área del intestino. La diarrea puede ser líquida o hemorrágica y frecuentemente el paciente manifiesta cólicos abdominales, leucocitosis y fiebre. Numerosos antibióticos se han vinculado con la colitis seudomembranosa, pero los más frecuentes son ampicilina y clindamicina y, más recientemente, fluoroquinolonas. El tratamiento de esta enfermedad consiste en interrumpir el antibiótico causal y administrar por vía oral metronidazol o vancomicina.

La administración de antibióticos provoca la proliferación de *C. difficile* resistente que produce dos toxinas. La toxina A, enterotoxina potente que también posee actividad citotóxica, se fija a las membranas del borde en cepillo del intestino en los sitios receptores. La toxina B es una citotoxina potente. Ambas toxinas se identifican en las heces fecales de los pacientes con colitis seudomembranosa. No todas las cepas de *C. difficile* producen las toxinas y al parecer los genes *tox* no son transportados en plásmidos o fagos.

Diarrea por antibióticos

Con frecuencia la administración de antibióticos provoca una diarrea leve a moderada que se denomina diarrea por antibióticos. Esta enfermedad por lo general es más leve que la forma clásica de colitis seudomembranosa. Hasta 25% de los casos de diarrea por antibióticos está relacionada con *C. difficile.*

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un ama de casa que vive en una granja pequeña es llevada a urgencias por diplopía y dificultad para hablar. En las dos últimas horas advirtió xerostomía y debilidad generalizada. Anoche sirvió como parte de la comida ejotes envasados en casa. Probó los ejotes antes de hervirlos. Ningún otro miembro de la familia enfermó. En la exploración física se observa parálisis descendente simétrica de los pares craneales, extremidades superiores y tronco. ¿Cuál de los siguientes es el diagnóstico correcto?
   (A) Tétanos
   (B) Intoxicación por estricnina
   (C) Botulismo
   (D) Sobredosis de morfina
   (E) Intoxicación por ricino
2. ¿Cuál de los siguientes constituye un factor de virulencia importante de *Bacillus anthracis*?
   (A) Antígeno protector
   (B) Lipopolisacárido
   (C) Fimbrias
   (D) Toxina que inhibe al factor EF-2 de alargamiento de la cadena peptídica
   (E) Lecitinasa
3. Un varón joven sufre lesiones importantes de los tejidos blandos y fracturas abiertas de la pierna derecha después de un accidente en motocicleta. Un día después su temperatura es de 38°C, frecuencia cardiaca elevada, diaforesis e inquietud. En la exploración física la pierna se observa edematosa y tensa, y de las heridas drena un material líquido seroso y oscuro. La piel de la pierna está fría, pálida, blanca y brillante. Se percibe crepitación. Su hematócrito es de 20% (cerca de 50% del normal) y la hemoglobina circulante es normal. En el suero exhibe hemoglobina libre. ¿Cuál de los microorganismos siguientes constituye la causa más probable de esta infección?
   (A) *Clostridiun tetani*
   (B) *Staphylococcus aureus*
   (C) *Escherichia coli*
   (D) *Bacillus anthracis*
   (E) *Clostridium perfringens*
4. Para el paciente descrito en la pregunta 3, ¿cuál de las siguientes probablemente causa la hemólisis?
   (A) EF
   (B) Tetanoespasmina
   (C) Lecitinasa
   (D) Estreptolisina O
   (E) Toxina B
5. El periodo de incubación notificado del carbunco por inhalación es de:
   (A) 2 días
   (B) 10 días
   (C) 3 semanas
   (D) 6 semanas
   (E) 6 meses
6. Un alimento que con frecuencia causa intoxicación alimentaria por *Bacillus cereus* es:
   (A) Arroz frito
   (B) Papa al horno
   (C) Arroz cocinado recientemente al vapor
   (D) Ejotes
   (E) Miel
7. La toxina tetánica (tetanoespasmina) se difunde hacia las terminales de las células inhibidoras en la médula espinal y tronco cerebral y bloquea a cuál de las siguientes:
   (A) Liberación de acetilcolina
   (B) Fragmentación de proteínas SNARE
   (C) Liberación de glicina inhibidora y ácido γ-aminobutírico
   (D) Liberación de PA
   (E) Activación de acetilcolinesterasa
8. Un varón de 45 años de edad que emigró a Estados Unidos hace cinco años sufrió una lesión por punción en el tercio inferior de la pierna derecha cuando su podadora lanzó una astilla. Seis días después, advirtió espasmos en los músculos de la pierna derecha; el séptimo día los espasmos aumentaron. El día de hoy (8o. día) manifiesta espasmos musculares generalizados, especialmente en los músculos de la quijada. No pudo abrir la quijada y acudió a urgencias. En urgencias el hombre se encuentra alerta y yace tranquilo en la cama. Una puerta en el pasillo se azota y el hombre manifiesta repentinamente un espasmo muscular general y su espalda se arquea. ¿Cuál de los siguientes es el diagnóstico correcto?
   (A) Botulismo
   (B) Carbunco
   (C) Gangrena gaseosa
   (D) Tétanos
   (E Síndrome de choque tóxico
9. ¿Cuál de las aseveraciones siguientes sobre el tétanos y el toxoide tetánico es correcta?
   (A) La toxina tetánica mata neuronas
   (B) La vacunación con toxoide tetánico tiene una tasa de fracaso de 10%
   (C) La tasa de mortalidad del tétanos generalizado es <1%
   (D) Con frecuencia el primer signo de tétanos es diplopía
   (E) La toxina tetánica actúa sobre las sinapsis interneuronales inhibidoras
10. Un varón de 67 años de edad se sometió a una cirugía por rotura de un divertículo del colon sigmoides con un absceso. Se realizó una reparación y el absceso se drenó. Se le administró tratamiento con gentamicina y ampicilina intravenosas. Diez días después y cuatro días después de su alta hospitalaria el paciente presentó malestar general, fiebre y cólicos abdominales. Tuvo varios episodios de diarrea. Las evacuaciones mostraron una prueba positiva de sangre oculta y presencia de polimorfonucleares. La sigmoidoscopia reveló mucosa eritematosa e inflamada y la presencia de placas amarillentas de 4 a 8 mm de diámetro. ¿Cuál de los siguientes constituye el problema más probable de este paciente?
   (A) Enterotoxina de *Staphylococcus aureus*
   (B) Toxina de *Bacillus cereus*
   (C) Toxinas de *Clostridium difficile*
   (D) Toxina de *Clostridium perfringens*
   (E) *Escherichia coli* enterohemorrágica
11. El botulismo infantil se ha vinculado con las siguientes especies de clostridios, excepto:
   (A) *Clostridium baratii*
   (B) *Clostridium septicum*
   (C) *Clostridium butyricum*
   (D) *Clostridium botulinum*
12. ¿Cuál de los siguientes alimentos se relaciona con más frecuencia con el botulismo infantil?
   (A) Jarabe de maíz
   (B) Leche en polvo enlatada
   (C) Multivitaminas líquidas

(D) Miel
(E) Alimento infantil envasado en frascos

13. Las siguientes son características de *Bacillus anthracis,* excepto:
    (A) Movilidad en la preparación en fresco
    (B) Colonias con forma de cabeza de medusa
    (C) Cápsula de ácido poli-D-glutámico
    (D) Sensibilidad *in vitro* a la penicilina
    (E) Ausencia de hemólisis en agar con sangre de carnero al 5%
14. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones sobre la vacuna contra *Bacillus anthracis* es correcta?
    (A) Se encuentra disponible constantemente para cualquier ciudadano de Estados Unidos
    (B) Los estudios clínicos sobre vacuna recombinante han demostrado que es segura y eficaz
    (C) La vacuna actual es bien tolerada
    (D) Una sola dosis basta después del contacto con esporas
    (E) La vacuna en animales carece de utilidad
15. Las aseveraciones siguientes sobre *Clostridium perfringens* son correctas, *excepto*:
    (A) Produce una enterotoxina
    (B) Produce una zona doble de hemólisis β cuando se cultiva en agar sangre
    (C) Algunas cepas son aerotolerantes
    (D) Constituye la causa más frecuente de diarrea por antibióticos
    (E) En ocasiones causa hemólisis intravascular

Respuestas

1. C	5. D	9. E	13. A
2. A	6. A	10. C	14. B
3. E	7. C	11. B	15. D
4. C	8. D	12. D	

BIBLIOGRAFÍA

Bleck TP: *Clostridium botulinum* (Botulism): In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 6th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2005.

Bleck TP: *Clostridium tetani* (Tetanus): In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 6th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2005.

Campbell JD, Clement KH, Wasserman SS, Donegan S, Chrisley L, Kotloff KL: Safety, reactogenicity, and immunogenicity of a recombinant protective antigen anthrax vaccine given to healthy adults. Human Vaccines 2007;3:205–11 [PMID: 17881903]

Dixon TC et al: Anthrax. N Engl J Med 1999;341:815. [PMID: 10477781]

Fekete F: Bacillus species and related genera other than *Bacillus anthracis*. In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 6th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2005.

Johnson EA, Summanen P, Finegold SM, Emery CL, Lyerly DM: *Clostridium*. In: *Manual of Clinical Microbiology,* 4th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Logan NA, Popovic T, Hoff master A: *Bacillus* and other aerobic endospore-forming bacteria. In: *Manual of Clinical Microbiology,* 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Lorber B: Gas gangrene and other *Clostridium*-associated diseases. In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 6th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2005.

Lucey D: *Bacillus anthracis* (Anthrax). In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 6th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2005.

Shapiro RL et al: Botulism in the United States: A clinical and epidemiologic review. Ann Intern Med 1998;129:221. [PMID: 9696731]

Thielman NM: Antibiotic-associated colitis. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.

Bacilos grampositivos aerobios no esporulantes: *Corynebacterium, Listeria, Erysipelothrix, Actinomyces* y patógenos relacionados

C A P Í T U L O

12

Los bacilos grampositivos no esporulantes constituyen un grupo diverso de bacterias aerobias y anaerobias. En este capítulo se revisan los miembros aerobios de este grupo. En el capítulo sobre infecciones anaeróbicas (cap. 21) se analizan los bacilos anaerobios, grampositivos no esporulantes como son las especies del género *Propionibacterium* y las especies del género *Actinomyces.* Géneros específicos de los dos grupos, es decir, especies del género *Corynebacterium* y especies del género *Propionibacterium,* son miembros de la microflora normal de la piel y las mucosas del ser humano y, como tales, a menudo son contaminantes de muestras clínicas que se remiten para valoracion diagnóstica. Sin embargo, entre los actinomicetos aerobios se encuentran microorganismos patógenos importantes como *Corynebacterium diphtheriae,* un microorganismo que produce una potente exotoxina que causa la difteria en el ser humano y *Mycobacterium tuberculosis*, el microorganismo causante de la tuberculosis. *Listeria monocytogenes* y *Erysipelothrix rhusiopathiae* se localizan principalmente en animales y a veces producen enfermedades graves en el ser humano. Las especies del género *Nocardia, Gordonia* y *Tsukamurella*, son microorganismos patógenos emergentes en pacientes inmunodeprimidos.

Las especies del género *Corynebacterium* y bacterias relacionadas por lo común tienen una forma irregular o en palillo de tambor; aunque no todas las cepas tienen las configuraciones irregulares, los términos bacterias "corineformes o difteroides" son convenientes para designar el grupo. Estas bacterias tienen un alto contenido de guanosina más citosina y comprenden los géneros *Corynebacterium, Arcanobacterium, Brevibacterium, Mycobacterium* y otros más (cuadro 12-1). Los géneros *Actinomyces* y *Propionibacterium* se clasifican con anaerobios, pero algunas cepas se desarrollan bien en medios aerobios (aerotolerantes) y se deben diferenciar de las bacterias corineformes aerobias. Otros bacilos grampositivos no esporulantes tienen formas más regulares y un contenido más bajo de guanosina más citosina. Los géneros comprenden *Listeria* y *Erysipelothrix;* estas bacterias están relacionadas en forma más estrecha con las especies anaerobias del género *Lactobacillus,* que a veces se desarrollan bien en aire, y con las especies formadoras de esporas de los géneros *Bacillus* y *Clostridium* (y con los cocos grampositivos de las especies de los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus*) que con las bacterias corineformes. En el cuadro 12-1 se enumeran los géneros de bacilos grampositivos de importancia médica y comprenden algunos géneros esporulantes y anaerobios. En el capítulo 21 se describen las bacterias anaerobias.

No hay método unificado para identificar los bacilos grampositivos. Algunos laboratorios tienen equipos para cuantificar el contenido de guanosina más citosina. El crecimiento sólo en condiciones anaerobias implica que la cepa es un anaerobio, pero muchas cepas de los géneros *Lactobacillus, Actinomyces* y *Propionibacterium* y otras más son aerotolerantes. La mayor parte de las cepas del género *Mycobacterium, Nocardia* y *Rhodococcus, Gordonia* y *Tsukamurella* son acidorresistentes y, por tanto, se diferencian con facilidad de las bacterias corineformes. Muchas especies de *Bacillus* y *Clostridium* producen esporas, lo cual las diferencia de manera fácil de las bacterias corineformes; sin embargo, *Clostridium perfringens* y otros clostridios filamentosos por lo general no producen esporas en medios de laboratorio. Para determinar que una cepa es un *Lactobacillus* (o *Propionibacterium*) puede ser necesaria la cromatografía de gas líquido para medir los productos metabólicos del ácido láctico (o ácido propiónico), pero esto en general no es práctico. Otras pruebas que se utilizan para tratar de identificar una cepa de bacilos grampositivos no esporulantes como miembros de un género o especie son la producción de catalasa, la producción de indol, la reducción de nitrato y la fermentación de carbohidratos, entre muchas otras. En varios laboratorios clínicos se han desarrollado técnicas de secuenciación dirigidas al gen de rRNA 16S u otros blancos génicos para la identificación de muchos de estos microorganismos, pero sobre todo de especies de los géneros *Mycobacterium* y *Nocardia* aisladas de especímenes clínicos.

CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE

Morfología e identificación

Las corinebacterias tienen un diámetro de 0.5 a 1 μm y de varios micrómetros de longitud. Es característico que posean tumefacciones irregulares en un extremo que les da el aspecto de "forma en palillo de tambor" (fig. 12-1). Con una distribución irregular

CUADRO 12-1 Algunos de los bacilos grampositivos más frecuentes de importancia médica

Bacilos grampositivos aerobios con contenido alto de G + C y forma irregular[a]	Bacilos grampositivos aerobios con contenido más bajo de G + C y forma más regular
Géneros	Géneros
Frecuentes	Frecuentes
Corynebacterium	*Listeria*
Infrecuentes	*Erysipelothrix*
Arcanobacterium	*Gardnerella*
Rothia	Anaerobios aerotolerantes/anaerobios estrictos
Acidorresistentes positivos	*Lactobacillus*
Rhodococcus	*Clostridium* (esporulantes) (cap. 11)
Nocardia	Aerobios
Tsukamurella	*Bacillus* (formador de esporas) (cap. 11)
Gordonia	
Muchos otros géneros de la microflora cutánea y ambiental	
Anaerobios aerotolerantes	
Actinomyces (cap. 21)	
Propionibacterium (cap. 21)	
Microorganismo patógeno principal: *Corynebacterium diphtheriae*	Principales microorganismos patógenos
Cepas frecuentes o clínicamente importantes del género *Corynebacterium*	*Listeria monocytogenes*
Corynebacterium amycolatum	*Erysipelothrix rhusiopathiae*
Corynebacterium minutissimum	
Corynebacterium jeikeium	
Corynebacterium pseudodiphtheriticum	
Corynebacterium striatum	
Corynebacterium urealyticum	
Corynebacterium xerosis	

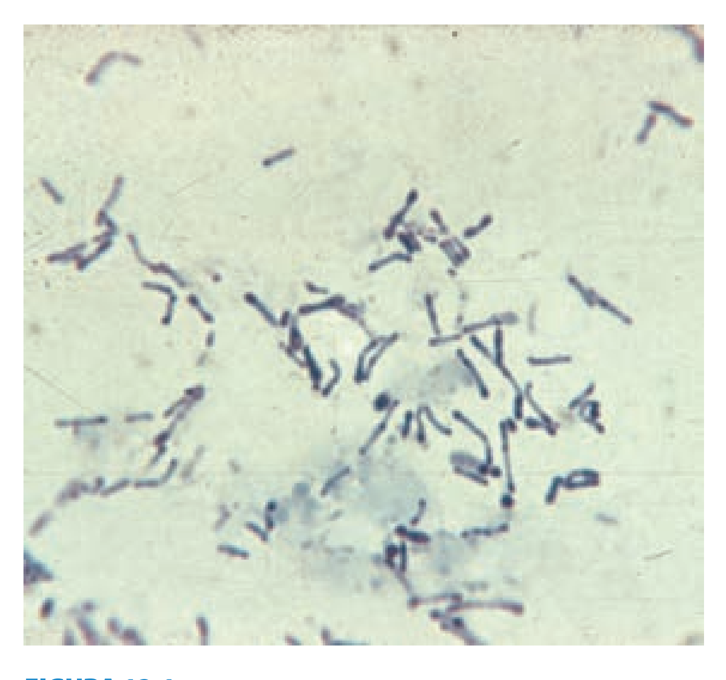


FIGURA 12-1 *Corynebacterium diphtheriae* de un medio de Pai teñido con azul de metileno. Es característico que tengan un diámetro de 0.5 a 1 × 3 a 4 μm. Algunas de las bacterias tienen extremos en palillo de tambor (amplificación original × 1 000).

dentro del bacilo (a menudo cerca de los polos) se encuentran los gránulos que se tiñen profundamente con colorantes de anilina (gránulos metacromáticos) que le confieren al bacilo un aspecto de abalorio. Las corinebacterias individuales en frotis teñidos tienden a acomodarse en forma paralela o en ángulos agudos entre sí. Pocas veces se observan verdaderas ramificaciones en los cultivos.

En agar sangre, las colonias de *C. diphtheriae* son pequeñas, granulosas y grises, con bordes irregulares y pueden tener pequeñas zonas de hemólisis. En telurita de potasio que contiene agar las colonias son de color pardo a negro con un halo negro pardusco debido a que la telurita se reduce dentro de la célula (estafilococos y estreptococos también producen colonias de color negro). Se han reconocido ampliamente cuatro biotipos de *C. diphtheriae:* gravis, mitis, intermedius y belfanti, y se clasificaron con base en las características de crecimiento tales como: morfológicas de la colonia, reacciones bioquímicas y gravedad de la enfermedad producida por la infección. Muy pocos laboratorios de referencia proporcionan la caracterización del biotipo; la frecuencia de difteria ha disminuido de manera considerable y la relación de la gravedad de la enfermedad con la biovariedad no es importante para el tratamiento clínico o el control de salud pública de los casos o de los brotes epidémicos. Si es necesario en el contexto de un brote epidémico, se pueden utilizar métodos inmunoquímicos y moleculares para tipificar *C. diphtheriae.*

C. diphtheriae y otras corinebacterias se desarrollan en medio aerobio en casi todos los medios de laboratorio ordinarios. En medio de suero de Loeffler, las corinebacterias proliferan con mayor rapidez que otros microorganismos respiratorios y las características morfológicas de los microorganismos son típicas en los frotis obtenidos de estas colonias.

Las corinebacterias tienden al pleomorfismo en la morfología microscópica y de colonias. Cuando algunos microorganismos de la difteria no toxígenos son infectados con bacteriófago de determinados bacilos de la difteria toxígenos, la progenie de las bacterias expuestas son lisógenas y toxígenas y este rasgo después se hereda. Cuando los bacilos de difteria toxígenos son subcultivados en serie en antisuero específico contra el fago temperado que portan, tienden a volverse no toxígenos. Por consiguiente, la adquisición del fago conduce a la toxigenicidad (conversión lisógena). La producción eficaz de la toxina ocurre tal vez sólo cuando el profago de *C. diphtheriae* lisógeno se activa y produce citólisis. Si bien la toxigenicidad está controlada por el gen del fago, la invasividad está sujeta al control de genes bacterianos.

Patogenia

El principal microorganismo patógeno en el ser humano del género *Corynebacterium* es *C. diphtheriae,* el microorganismo que produce la difteria respiratoria o cutánea. En la naturaleza, *C. diphtheriae* se observa en el sistema respiratorio, en heridas o en la piel de personas infectadas o en portadores normales. Se disemina por las gotitas de secreciones respiratorias o por el contacto con individuos susceptibles; los bacilos luego se desarrollan en las mucosas o en abrasiones en la piel y los que son toxígenos comienzan a producir toxina. Todos los microorganismos de la especie *C. diphtheriae* toxígena son capaces de elaborar la misma exotoxina productora de la enfermedad. La producción *in vitro* de esta toxina depende en gran parte de la concentración de hierro. La producción de toxina es óptima a 0.14 μg de hierro por mililitro de medio pero prácticamente se suprime a una concentración de 0.5 μg/ml. Otros factores que influyen en la producción de toxina *in vitro* son presión osmótica, concentración de aminoácidos, pH y disponibilidad de fuentes adecuadas de carbono y nitrógeno. Los factores que controlan la producción de toxina *in vitro* no se comprenden bien.

La **toxina de difteria** es un polipéptido lábil al calor (PM de 62 000) que puede ser letal en una dosis de 0.1 μg/kg. Si se rompen los puentes disulfuro, la molécula puede dividirse en dos fragmentos. El fragmento B (PM = 38 000), que no tiene actividad independiente, se divide funcionalmente en un dominio de receptor y un dominio de translocación. La unión del dominio de receptor a las proteínas de membrana de la célula anfitriona CD-9 y al precursor parecido al factor de crecimiento epidérmico fijador de heparina (HBEGF, *heparin-binding epidermal growth factor*), desencadena la entrada de la toxina en la célula a través de la endocitosis mediada por el receptor. La acidificación del dominio de translocación dentro de un endosoma en desarrollo conduce a la creación de un canal de proteína que facilita el desplazamiento del fragmento A hacia el citoplasma de la célula hospedadora. El fragmento A inhibe la elongación de la cadena polipeptídica, siempre y cuando haya presente dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD), al inactivar el factor de elongación EF-2. Este factor es necesario para la translocación del RNA de transporte de polipeptidil desde el sitio aceptante al donante en el ribosoma eucariótico. El fragmento A de la toxina inactiva EF-2 al catalizar una reacción que produce nicotinamida libre más complejo de adenosina difosfato-ribosa-EF-2 inactivo (ADP-ribosilación). Se cree que el cese brusco de la síntesis de proteína es la causa de los efectos necrosantes y neurotóxicos de la toxina de la difteria. Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* pueden producir una exotoxina mediante un mecanismo de acción similar.

Anatomía patológica

La toxina de la difteria se absorbe hacia las mucosas y produce destrucción del epitelio y una respuesta inflamatoria superficial. El epitelio necrótico queda embebido en la fibrina exudativa y los eritrocitos y leucocitos, de manera que se forma una "seudomembrana" grisácea, por lo general sobre amígdalas, faringe o laringe. Cualquier tentativa de eliminar la seudomembrana expone y desgarra los capilares y por tanto produce hemorragia. Los ganglios linfáticos regionales en el cuello aumentan de tamaño y puede haber un edema notable de todo el cuello. Los bacilos de la difteria en la membrana continúan produciendo toxina en forma activa. Ésta se absorbe y da lugar a una lesión tóxica a distancia, sobre todo degeneración parenquimatosa, infiltración adiposa y necrosis de músculo cardiaco, hígado, riñones y suprarrenales, que a veces se acompaña de hemorragia abundante. La toxina también produce lesión nerviosa, lo que a menudo resulta en parálisis del paladar blando, los músculos oculares o las extremidades.

La difteria de heridas o de la piel se presenta principalmente en los trópicos. Se forma una membrana sobre una herida infectada que no logra cicatrizar. Sin embargo, la absorción de toxina suele ser leve y los efectos sistémicos insignificantes. La pequeña cantidad de toxina que se absorbe durante la infección cutánea favorece el desarrollo de anticuerpos antitoxina. La "virulencia" de los bacilos diftéricos se debe a su capacidad para establecer la infección, su proliferacion rápida y luego su elaboración rápida de toxina que se absorbe de manera eficaz. *C. diphtheriae* no tiene que ser toxígena para establecer una infección localizada (p. ej., en la nasofaringe o la piel) pero las cepas no toxígenas no producen efectos tóxicos localizados o sistémicos. *C. diphtheriae* no invade activamente tejidos profundos y prácticamente nunca entra en la circulación sanguínea, aunque se han descrito casos raros de endocarditis.

Manifestaciones clínicas

Cuando comienza la inflamación difterítica en las vías respiratorias, por lo general ocurre faringitis y fiebre. La postración y la disnea se presentan poco después por la obstrucción causada por la membrana. Esta obstrucción puede incluso ocasionar asfixia si no se trata con rapidez mediante intubación o traqueostomía. Las irregularidades del ritmo cardiaco indican lesión del corazón. Más tarde puede haber dificultades visuales, de lenguaje, de la deglución o del movimiento de los brazos o las piernas. Todas estas manifestaciones tienden a desaparecer en forma espontánea.

En general, la variedad gravis tiende a producir una enfermedad más grave que la variedad mitis, pero todos los tipos pueden producir enfermedad similar.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Son útiles para confirmar la impresión clínica y tienen importancia epidemiológica. ***Nota:*** El tratamiento específico nunca debe demorarse por los resultados de laboratorio si el cuadro clínico es muy sugestivo de difteria. Los médicos deben notificar al laboratorio clínico antes de obtener o remitir muestras para cultivo.

Antes de la administración de fármacos antimicrobianos deben obtenerse frotis de dacrón de la nariz, la faringe o de otras lesiones sospechosas (por debajo de cualquier membrana visible). El frotis luego debe colocarse en medios de transporte semisólidos como Amies. Los frotis teñidos con azul de metileno alcalino o con tinción de Gram muestran bacilos en abalorios con una disposición característica.

Las muestras deben inocularse en una placa de agar sangre (para descartar estreptococos hemolíticos), un cultivo inclinado de Loeffler y una placa de telurita (p. ej., agar cistina-telurita o medio de Tinsdale modificado) e incubado a una temperatura de 37°C. En un término de 12 a 18 h, el cultivo inclinado de Loeffler puede producir microorganismos de morfología "difteroide" característica. En 36 a 48 h, las colonias en medio de telurita son lo suficientemente definidas para el reconocimiento de *C. diphtheriae.*

Una cepa presuntiva de *C. diphtheriae* debe someterse a pruebas de toxigenicidad. Tales pruebas se realizan sólo en laboratorios de salud pública de referencia. Existen varios métodos, a saber:

1. Un disco de papel filtro que contiene antitoxina (10 UI/disco) se coloca en una placa de agar. Los cultivos que se van a examinar en cuanto a toxigenicidad son inoculados al momento a 7 a 9 mm de distancia del disco. Después de 48 h de incubación, la antitoxina que se difunde desde el disco de papel ha precipitado la toxina que se difunde desde los cultivos toxígenos y ha producido bandas de precipitina entre el disco y el crecimiento bacteriano. Este es el método de Elek modificado descrito por la Unidad de Referencia de Difteria de la OMS.
2. Se han descrito los métodos a base de la reacción en cadena de la polimerasa para la detección del gen de la toxina diftérica (*tox*). Los análisis de PCR para *tox* también se pueden utilizar directamente en los especímenes de los pacientes antes que se disponga de los resultados de cultivo. Un cultivo positivo confirma un análisis de PCR positivo. Un cultivo negativo después de la antibioticoterapia junto con un análisis de PCR positivo indica que el paciente probablemente tiene difteria.
3. Se pueden emplear enzimoinmunoanálisis de adsorción para detectar toxina diftérica de cepas de *C. diphtheriae* clínicas.
4. Un análisis de tira inmunocromográfica permite detectar toxinas de la difteria en cuestión de horas. Este análisis es muy sensible.

Los últimos dos estudios no se llevan a cabo en todos los lugares.

De manera histórica, se ha demostrado la toxigenicidad de una cepa de *C. diphtheriae* mediante la inyección en dos cobayos de la cepa emulsificada. Si el cobayo protegido con antitoxina de la difteria sobrevive pero el no protegido fallece, se considera que la cepa es toxígena. Esta prueba se ha remplazado en gran parte por tecnología más moderna.

Resistencia e inmunidad

Puesto que la difteria es principalmente resultado de la acción de la toxina formada por el microorganismo más que de la invasión por el mismo, la resistencia a la enfermedad depende en gran parte de la disponibilidad de la antitoxina neutralizante específica en la circulación sanguínea y en los tejidos. En general es verdad que la difteria ocurre sólo en las personas que no poseen antitoxina (o menos de 0.01 unidades Lf [límite de floculación]/ml). La mejor manera de valorar la inmunidad a la toxina de la difteria en pacientes individuales es mediante el análisis de las inmunizaciones con toxoide diftérico documentadas y si es necesaria la inmunización primaria o de refuerzo.

Tratamiento

El tratamiento de la difteria se basa en gran parte en la supresión rápida de las bacterias productoras de toxina por los fármacos antimicrobianos y la administración inicial de la antitoxina específica contra la toxina formada por los microorganismos en su lugar de entrada y multiplicación. La antitoxina de la difteria se produce en diversos animales (caballos, corderos, cabras y conejos) mediante la inyección repetida de toxoide purificado y concentrado. El tratamiento con antitoxina es indispensable cuando hay sospecha clínica importante de difteria. Se inyectan de 20 000 a 100 000 unidades por vía intramuscular o intravenosa después que se han tomado las precauciones adecuadas (prueba cutánea o conjuntival) para descartar hipersensibilidad al suero del animal. La antitoxina se debe administrar el día que se establece el diagnóstico clínico de difteria y no es necesario repetirlo. En los casos leves es posible utilizar la inyección intramuscular.

Los fármacos antimicrobianos (penicilina, eritromicina) inhiben el crecimiento de los bacilos de la difteria. Aunque estos fármacos prácticamente no tienen ningún efecto sobre el proceso patológico, detienen la producción de toxina. También ayudan a eliminar estreptococos y *C. diphtheriae* concomitantes del sistema respiratorio de pacientes o portadores.

Epidemiología, prevención y control

Antes de la inmunización artificial, la difteria era principalmente una enfermedad de niños pequeños. La infección ocurría en forma sintomática o asintomática en una etapa inicial y producía la propagación de la antitoxina en la población. Una infección asintomática durante la adolescencia y la edad adulta servía de estímulo para el mantenimiento de altas concentraciones de antitoxina. Por consiguiente, casi todos los miembros de la población, excepto los niños, eran inmunes.

Casi 75% de los niños entre seis y ocho años que viven en países en vías de desarrollo donde las infecciones cutáneas por *C. diphtheriae* son frecuentes tienen concentraciones séricas de antitoxina protectoras. La absorción de pequeñas cantidades de toxina de la difteria de la infección en la piel al parecer proporciona el estímulo antigénico para la respuesta inmuni-

taria; la cantidad de toxina que se absorbe no produce enfermedad.

La inmunización activa en la infancia con toxoide de la difteria genera concentraciones de antitoxina que por lo general son adecuadas hasta la edad adulta. Los adultos jóvenes deben recibir refuerzos de toxoide, porque los bacilos de la difteria toxígenos no tienen suficiente prevalencia en la población de muchos países desarrollados para proporcionar el estímulo de la infección asintomática con la estimulación de la resistencia. Las concentraciones de antitoxina disminuyen con el tiempo y muchas personas de edad avanzada tienen cantidades insuficientes de antitoxina circulante para protegerlas contra la difteria.

Los principales objetivos de la prevención son limitar la distribución de los bacilos diftéricos toxígenos en la población y mantener un alto grado de inmunización activa posible.

Para limitar el contacto con los bacilos diftéricos a un mínimo se debe aislar a los pacientes con difteria. Sin tratamiento, un gran porcentaje de las personas infectadas continúan eliminando los bacilos de la difteria durante semanas o meses después del restablecimiento (portadores convalecientes). Este peligro puede reducirse bastante mediante el tratamiento activo inicial con antibióticos.

Un filtrado de caldo de cultivo de una cepa toxígena se trata con formalina al 0.3% e incubada a una temperatura de 37°C hasta que haya desaparecido la toxicidad. Este **toxoide líquido** es purificado y estandarizado en unidades floculantes (dosis de Lf). Los toxoides líquidos preparados según se mencionó se adsorben al hidróxido de aluminio o al fosfato de aluminio. Este material permanece por más tiempo en un reservorio después de la inyección y es un mejor antígeno. Tales toxoides suelen combinarse con toxoide tetánico (Td) y a veces con la vacuna contra la tos ferina (DPT o DaPT) como una sola inyección que se utiliza en la inmunización inicial de los niños. Para la inyección de refuerzo en los adultos, sólo se utilizan toxoides Td o toxoides Td combinados con vacuna contra la tos ferina acelular (para una inyección única en las personas que recibieron la vacuna contra la tos ferina de célula entera durante la infancia); éstas combinan una dosis completa del toxoide tetánico con una dosis más pequeña de 10 tantos del toxoide de la difteria a fin de disminuir la posibilidad de reacciones adversas.

Todos los niños deben recibir un ciclo inicial de inmunizaciones y refuerzos. Los refuerzos periódicos con Td son muy importantes en los adultos que viajan a los países en vías de desarrollo, donde la frecuencia de la difteria clínica puede ser 1 000 veces mayor que en los países desarrollados, donde la inmunización es general.

OTRAS BACTERIAS CORINEFORMES

Muchas otras especies del género *Corynebacterium* se han relacionado con enfermedades en el ser humano. Las bacterias corineformes se clasifican como no lipófilas o lipófilas, lo que depende de la intensificación del crecimiento por la adición de lípidos al medio de crecimiento. Las corinebacterias lipófilas crecen con lentitud en agar sangre de cordero, produciendo colonias de <0.5 mm de diámetro después de 24 h de incubación. Las reacciones clave adicionales para la clasificación de las bacterias corineformes comprenden pero no están limitadas a las siguientes pruebas: metabolismo fermentativo u oxidativo, producción de catalasa, motilidad, reducción de nitrato, producción de ureasa e hidrólisis en esculina. Las especies del género *Corynebacterium* suelen ser no móviles y productoras de catalasa. Las bacterias corineformes son residentes normales de las mucosas de la piel, las vías respiratorias, el sistema urinario y las conjuntivas.

Corinebacterias no lipófilas

El grupo de corinebacterias no lipófilas comprende múltiples especies que pueden diferenciarse con base en el metabolismo fermentativo u oxidativo. *Corynebacterium ulcerans* y *Corynebacterium pseudotuberculosis* están relacionados en forma estrecha con *C. diphtheriae* y pueden portar el gen *tox* de la difteria. La bacteria *C. ulcerans* toxígena puede causar una enfermedad similar a la difteria clínica, en tanto que *C. pseudotuberculosis* pocas veces produce enfermedad en los seres humanos. Otras especies del grupo fermentativo no lipófilo comprenden *Corynebacterium xerosis, Corynebacterium striatum, Corynebacterium minutissimum* y *Corynebacterium amycolatum.* Éstas son las bacterias corineformes que se aíslan con mayor frecuencia. Muchas cepas previamente identificadas como *C. xerosis* pueden haberse identificado de manera errónea y en realidad eran *C. amycolatum.* Hay pocos casos bien documentados de enfermedad causada por *C. minutissimum,* aunque el microorganismo a menudo se aísla de especímenes clínicos. Históricamente, *C. xerosis* y *C. striatum* han causado una variedad de infecciones en seres humanos.

Las infecciones hospitalarias a menudo se relacionan con tres corinebacterias no fermentativas. *Corynebacterium auris* se ha relacionado con infecciones óticas en los niños y *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* se ha relacionado con infecciones de las vías respiratorias. *Corynebacterium glucuronolyticum* a menudo es productor de ureasa y es un microorganismo patógeno del aparato urinario.

Corinebacterias lipófilas

Corynebacterium jeikeium es una de las bacterias corineformes que más suelen aislarse en pacientes graves. Puede causar enfermedad en personas inmunodeprimidas y es importante porque produce infecciones, incluida la bacteriemia, que tienen una elevada tasa de mortalidad y porque son resistentes a muchos antimicrobianos de uso común. *Corynebacterium urealyticum* es una especie de desarrollo lento que es multirresistente a antibióticos. Como lo implica su nombre, es ureasa-positivo. Se ha relacionado con infecciones del aparato urinario agudas o crónicas manifestadas por un pH urinario alcalino y formación de cristales.

Otros géneros corineformes

Existen muchos otros géneros y especies de bacterias corineformes. *Arcanobacterium haemolyticum* produce hemólisis β en agar sangre. A veces produce faringitis y puede cultivarse en medios selectivos para estreptococos. *A. haemolyticum* no produce catalasa, al igual que los estreptococos del grupo A y se debe diferenciar por la morfología en la tinción de Gram (bastones frente a cocos) y las características bioquímicas. La mayoría de las bacterias corineformes en los otros géneros son causas poco

comunes de enfermedad y no suelen identificarse en el laboratorio clínico.

Rothia dentocariosa es un bacilo grampositivo que forma filamentos ramificantes. Se ha relacionado con abscesos y endocarditis. Posiblemente después de entrar en la sangre desde la boca. El coco grampositivo, *Stomatococcus mucilaginosis,* se ha desplazado al género *Rothia.* Es un residente frecuente de la cavidad bucal y se ha relacionado con bacteriemia en hospedadores graves y endocarditis en usuarios de drogas intravenosas.

LISTERIA MONOCYTOGENES

Existen varias especies del género *Listeria.* De éstas, *L. monocytogenes* es importante como causa de un amplio espectro de enfermedades en animales y seres humanos. *L. monocytogenes* es capaz de crecer y sobrevivir en una amplia gama de condiciones ambientales. Puede sobrevivir a temperaturas de refrigerador (4°C), bajo condiciones de pH bajo y condiciones de alto contenido de sal. Por tanto, puede superar la preservación de alimentos y las barreras de seguridad de manera que es un microorganismo patógeno importante transmitido en los alimentos.

Características morfológicas e identificación

L. monocytogenes es un bacilo corto, grampositivo, no formador de esporas (fig. 12-2). Produce catalasa y tiene una motilidad de extremo sobre extremo tambaleante a una temperatura de 22 a 28°C pero no de 37°C; la prueba de motilidad rápidamente diferencia a la *Listeria* de los difteroides que son miembros de la microflora normal de la piel.

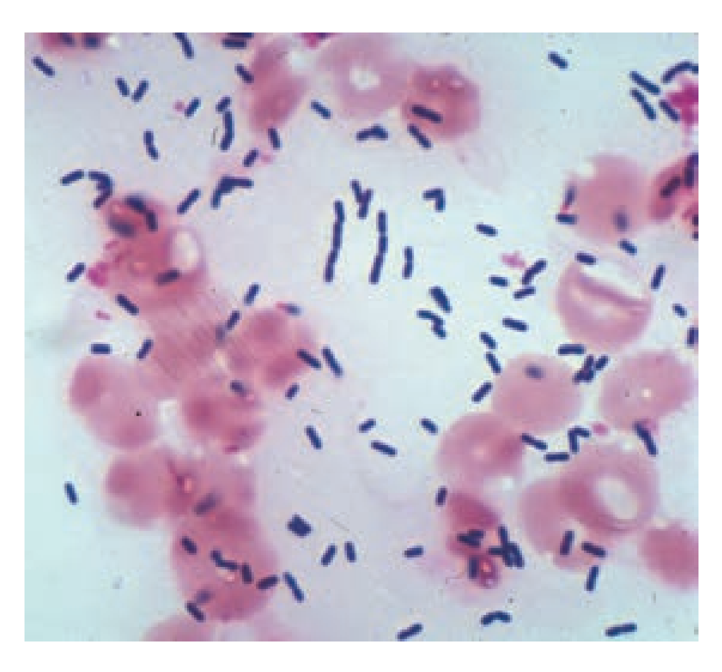


FIGURA 12-2 Tinción de Gram del bacilo grampositivo *Listeria monocytogenes* en un hemocultivo. Amplificación original × 1 000. Los eritrocitos están presentes en el fondo. La *Listeria* aislada de muestras clínicas a menudo muestran variación en la longitud y también por lo general en la forma. Es característico que tengan un diámetro de 0.4 a 0.5 μm y una longitud de 0.5 a 2 μm. (Cortesía de H. Tran.)

Características de cultivo y crecimiento

Listeria crece bien en medios como agar sangre de cordero al 5% en el cual muestra la pequeña zona característica de hemólisis alrededor de las colonias y por debajo de las mismas. El microorganismo es un anaerobio facultativo y produce catalasa, hidrólisis de esculina y es móvil. *Listeria* produce ácido pero no gas por la utilización de diversos carbohidratos.

La motilidad a una temperatura ambiental y la producción de hemolisina son características primordiales que ayudan a diferenciar *Listeria* de las bacterias corineformes.

Clasificación antigénica

La clasificación serológica se lleva a cabo sólo en los laboratorios de referencia y se utiliza principalmente para los estudios epidemiológicos. Los serotipos 1/2a, 1/2b y 4b constituyen más del 95% de las cepas de seres humanos. El serotipo 4b produce la mayor parte de los brotes epidémicos transmitidos en los alimentos.

Patogenia e inmunidad

L. monocytogenes entra en el cuerpo a través del aparato digestivo tras la ingestión de alimentos contaminados como quesos o verduras. El microorganismo tiene varias proteínas de adhesina (Ami, Fbp A y flagelina) que facilitan la fijación de las bacterias a las células hospedadoras y que contribuyen a la virulencia. Tiene una proteína de superficie de la pared celular denominada internalina A que interactúa con la E-caderina, un receptor en las células epiteliales, que favorece la fagocitosis hacia las células epiteliales. Después de la fagocitosis, la bacteria es envuelta en un fagolisosoma, donde es activada por el pH bajo para producir listeriolisina O. Esta enzima produce lisis de la membrana del fagolisosoma y permite que las listerias escapen hacia el citoplasma de la célula epitelial. Los microorganismos proliferan y ActA, otra proteína de superficie de la listeria, activa la polimerización de la actina de la célula anfitriona, lo cual las impulsa hacia la membrana celular. Empujando la membrana de la célula hospedadora, produce la formación de protrusiones elongadas denominadas filópodos, que son ingeridos por células epiteliales adyacentes, macrófagos y hepatocitos, las listerias son liberadas y el ciclo comienza de nuevo. *L. monocytogenes* se puede mover de una célula a otra sin estar expuesta a anticuerpos, complemento o células polimorfonucleares. *Shigella flexneri* y rickettsias también usurpan la actina y el sistema contráctil de las células anfitrionas para diseminar sus infecciones.

El hierro es un factor de virulencia importante. Las listerias producen sideróforos y pueden obtener hierro de la transferrina.

La inmunidad para *L. monocytogenes* es mediada principalmente por células, según se demuestra por la ubicación intracelular de la infección y por la notable relación de la infección con los estados que cursan con alteración de la inmunidad mediada por células como el embarazo, sida, linfoma y trasplante de órganos. La inmunidad puede ser transferida por los linfocitos sensibilizados pero no por los anticuerpos.

Manifestaciones clínicas

Existen dos formas de listeriosis humana perinatal. El síndrome de instauración inicial (**granulomatosis infantiséptica**) es el resultado de la infección *in utero* y es una forma diseminada de la enfermedad que se caracteriza por septicemia neonatal, lesiones pustulosas y granulomas que contienen *L. monocytogenes* en múltiples órganos. La defunción puede ocurrir antes o después del parto. El síndrome de inicio tardío produce la aparición de meningitis entre el nacimiento y la tercera semana de vida; a menudo es causada por el serotipo 4b y tiene una tasa de mortalidad importante.

Los adultos pueden presentar meningoencefalitis por listeria, bacteriemia y pocas veces infecciones focales. La meningoencefalitis y la bacteriemia ocurren más a menudo en pacientes inmunodeprimidos en quienes la Listeria es una de las causas más frecuentes de meningitis. La presentación clínica de la meningitis listeriósica en estos pacientes varía de insidiosa a fulminante y no es específica. En las personas con buena respuesta inmunitaria, la enfermedad puede no ocurrir tras la ingestión del alimento contaminado o los pacientes pueden presentar una gastroenteritis febril sintomática. Ésta aparece tras un periodo de incubación de 6 a 48 h. Los síntomas consisten en fiebre, escalofríos, cefalea, mialgias, dolor abdominal y diarrea. La enfermedad suele ser autolimitada y por lo común, los laboratorios clínicos no efectúan un cultivo sistemático de *Listeria* a partir de muestras fecales y sistemáticas.

El diagnóstico de listeriosis se basa en el aislamiento del microorganismo en hemocultivos y líquido cefalorraquídeo.

La infección espontánea ocurre en muchos animales domésticos y salvajes. En los rumiantes (p. ej., las ovejas) la Listeria puede causar meningoencefalitis con o sin bacteriemia. En animales más pequeños (p. ej., conejos y gallinas) ocurre septicemia con abscesos focales en el hígado y en músculo cardiaco así como una monocitosis intensa.

Muchos fármacos antimicrobianos inhiben a la Listeria *in vitro*. Se han obtenido curaciones clínicas con ampicilina, eritromicina o con trimetoprim-sulfametoxazol administrado por vía intravenosa. Las cefalosporinas y las fluoroquinolonas no son activas contra *L. monocytogenes.* La ampicilina más la gentamicina suelen recomendarse para el tratamiento, pero la gentamicina no entra en las células anfitrionas y puede no ser útil para tratar la infección listeriósica.

ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE

Erysipelothrix rhusiopathiae es un bacilo grampositivo que produce pequeñas colonias transparentes de aspecto brillante. Puede ser hemolítico α en agar sangre. En las tinciones de Gram a veces muestra aspecto gramnegativo porque se decolora con facilidad. Las bacterias pueden aparecer en forma individual, en cadenas cortas, distribuidas en forma fortuita o en filamentos largos no ramificantes. La morfología de la colonia y el aspecto en la tinción de Gram varían dependiendo del medio de crecimiento, la temperatura de incubación y el pH. *Erysipelothrix* no produce catalasa, oxidasa ni indol. Cuando se cultiva *Erysipelothrix* en agar hierro con triple glúcido, se produce sulfuro de hidrógeno, y hace que adopte un color negro el medio de agar hierro y glúcido triple (TSI, *triple sugar iron*).

E. rhusiopathiae debe diferenciarse de *L. monocytogenes, Arcanobacterium pyogenes* y *A. haemolyticum,* pero estas tres especies son hemolíticas β y no producen sulfuro de hidrógeno cuando se cultivan en medio de TSI. Es más difícil diferenciar *E. rhusiopathiae* de lactobacilos aerotolerantes; los dos pueden ser hemolíticos α. No producen catalasa y son resistentes a la vancomicina (80% de los lactobacilos). Además, algunas cepas de lactobacilos producen H_2S de una forma muy parecida a *E. rhusiopathie.*

E. rhusiopathiae se distribuye en animales de tierra y mar en todo el mundo, lo que comprende diversos vertebrados e invertebrados. Es causa de enfermedad en cerdos domésticos, pavos, patos y ovejas. Las repercusiones importantes son en las ovejas, donde produce erisipela. En el ser humano, la erisipela es causada por estreptococos hemolíticos β del grupo A y es muy diferente de la erisipela porcina. Las personas obtienen la infección por *E. rhusiopathiae* por la inoculación directa de animales o productos animales. Las personas con máximo riesgo son pescadores, personas que manipulan pescado, trabajadores de rastros, carniceros y otras personas que tienen contacto con productos animales.

La infección por *E. rhusiopathiae* más frecuente en el ser humano se denomina erisipeloide. Por lo general ocurre en los dedos por la inoculación directa en el lugar de una herida o una abrasión (y se ha denominado "dedo de foca" y "dedo de ballena"). Después de la incubación de dos a siete días, ocurre dolor (que llega a ser intenso) y edema. La lesión está elevada y es de color violáceo. No suele haber pus en el lugar de la infección, lo que ayuda a distinguirla de las infecciones cutáneas estafilocócicas y estreptocócicas. La erisipeloide puede resolverse después de tres a cuatro semanas o con más rapidez mediante antibioticoterapia. Las formas clínicas adicionales de la infección (ambas poco comunes) son una forma cutánea difusa y la bacteriemia con endocarditis. *Erysipelothrix* es muy susceptible a la penicilina G, el fármaco de elección para las infecciones graves. El microorganismo es intrínsecamente resistente a la vancomicina.

ACTINOMICETOS

Los actinomicetos aerobios son un grupo diverso y considerable de bacilos grampositivos con una tendencia a formar cadenas o filamentos. Están relacionados con las corinebacterias y comprenden múltiples géneros de importancia clínica (como *Mycobacteria* que se describe en el capítulo 23) y los microorganismos saprofíticos como *Streptomyces*. A medida que crecen los bacilos, las férulas se mantienen unidas tras la división para formar cadenas alargadas de bacterias (1 μm de amplitud) con ramas ocasionales. La magnitud de este proceso varía en diferentes taxones. Es rudimentaria en algunos actinomicetos, las cadenas son cortas, se rompen y se separan después de la formación y se parecen a los difteroides; otras presentan sustrato extenso o filamentos aeriales (o ambos); o se fragmentan en formas cocobacilares. Los miembros de actinomicetos aerobios pueden clasificarse basándose en la tinción acidorresistente. Las micobacterias son microorganismos acidorresistentes verdaderamente positivos; los géneros débilmente positivos comprenden *Nocardia, Rhodococcus* y algunos otros de importancia clínica. *Streptomyces* y *Actinomadura,* dos compuestos que producen micetomas actinomicóticos, son negativos para la tinción acidorresistente.

R. equi parece ser un bacilo después de algunas horas de incubación en caldo, pero con la incubación adicional se convierte en una forma cocoide. Esta especie de *Rhodococcus* a menudo también produce colonias pigmentadas después de 24 h de incubación que van desde el color de rosa salmón hasta el rojo.

Los microorganismos por lo general son débilmente acidorresistentes positivos cuando se tiñen por el método de Kinyoun modificado. *R. equi* a veces produce infecciones como neumonía necrosante en pacientes inmunodeprimidos con inmunidad anormal mediada por células (p. ej., pacientes con sida). *R. equi* está presente en el suelo y en excremento de herbívoros. El microorganismo es una causa esporádica de enfermedad en ganado vacuno, corderos y cerdos y puede ser causa de infecciones pulmonares graves en potros. Otras especies del género diverso *Rhodococcus* están presentes en el medio ambiente pero raras veces producen enfermedad en el ser humano.

NOCARDIOSIS

El género *Nocardia* sigue experimentando considerable reclasificación taxonómica. Nuevas especies continúan reconociéndose y se han implicado por lo menos 30 especies como causas de infecciones humanas.

La especie más frecuente relacionada con la mayor parte de los casos de infecciones en seres humanos son el complejo *N. nova, N. farcinica, N. asteroides* de tipo VI (*N. cyriacigeorgica)* y *N. brasiliensis.* Cada una de estas especies es causa de una amplia gama de enfermedades y cada especie/complejo tiene patrones de susceptibilidad a fármacos singulares. Las nocardias patógenas, como muchas especies no patógenas de *Nocardia*, se encuentran en todo el mundo en la tierra y el agua. La nocardiosis es iniciada por la inhalación de estas bacterias. El cuadro clínico habitual es una infección pulmonar subaguda a crónica que puede diseminarse a otros órganos, por lo general el cerebro o la piel. Las nocardias no se transmiten de persona a persona.

Morfología e identificación

Las especies del género *Nocardia* son aerobias y se cultivan en diversos medios. Durante el curso de varios días a una semana o más, presentan colonias apiladas, irregulares, cerosas. Las cepas tienen una pigmentación variable desde blancas a color naranja o rojo. Estas bacterias son grampositivas, producen catalasa y son bacilos parcialmente acidorresistentes. Producen ureasa y pueden digerir parafina. Las nocardias forman sustratos ramificantes extensos y filamentos aeriales que se fragmentan después de la formación, que emergen como células cocobacilares. Las paredes celulares contienen ácidos micólicos que son de cadena más corta que las de las micobacterias. Se consideran débilmente acidorresistentes, pero si se tiñen con el reactivo acidorresistente habitual (carbol-fucsina) pero se decoloran con el ácido sulfúrico a 1 a 4% en vez del decolorante de ácido-alcohol más potente, la mayor parte de las cepas se teñirán con tinción acidorresistente. Las especies de *Nocardia* se identifican principalmente por métodos moleculares como la secuenciación del gen de rRNA 16S y el análisis de RFLP de fragmentos de genes amplificados como *hsp.*

Patogenia y manifestaciones clínicas

Casi en todos los casos la nocardiosis es una infección oportunista relacionada con varios factores de riesgo, la mayor parte de los cuales alteran las respuestas inmunitarias mediadas por células: el tratamiento con corticoesteroides, la inmunodepresión, el trasplante de órganos, el sida, la tuberculosis y el alcoholismo. La nocardiosis comienza como una neumonía lobar crónica y pueden presentarse diversos síntomas, como fiebre, adelgazamiento y dolor torácico. Las manifestaciones clínicas no son distintivas y semejan a la tuberculosis y a otras infecciones. Pueden presentarse consolidaciones pulmonares, pero son infrecuentes la formación de granulomas y la caseificación. El proceso patológico habitual es la formación de abscesos. La diseminación desde el pulmón a menudo afecta al sistema nervioso central, en tanto que los abscesos aparecen en el cerebro, y dan por resultado diversas manifestaciones clínicas. Algunos pacientes tienen afectación pulmonar asintomática y presentan lesiones cerebrales. La diseminación también puede ocurrir hacia la piel, los riñones, los ojos o a otras partes.

Pruebas de laboratorio diagnósticas

Las muestras consisten en esputo, pus, líquido cefalorraquídeo y material de biopsia. Los frotis con tinción de Gram revelan bacilos grampositivos, células cocobacilares y filamentos ramificados. Con la tinción acidorresistente modificada, la mayor parte de las cepas serán acidorresistentes. Las bacterias del género *Nocardia* se desarrollan en casi todos los medios de laboratorio. Las pruebas serológicas no son útiles.

Tratamiento

El tratamiento de elección es trimetoprim-sulfametoxazol. Si los pacientes no responden, se han utilizado otros antibióticos diversos con éxito, como amikacina, imipenem, minociclina, linezolida y cefotaxima. Puede ser necesario el drenaje quirúrgico o bien la resección.

Actinomicetos emergentes: *Gordonia* y *Tsukamurella*

Los miembros de los géneros *Gordonia* y *Tsukamurella* son bacterias acidorresistentes positivas modificadas que cada vez son una causa más frecuente de infecciones oportunistas en pacientes hospitalizados inmunodeprimidos. Las especies del género *Gordonia* producen colonias de color naranja arrugadas. En la tinción de Gram, los microorganismos tienen aspecto corineforme y no se ramifican. Cuando estos microorganismos se aíslan de fuentes no estériles como esputo, pueden descartarse como microflora normal o contaminantes. Las especies del género *Tsukamurella* forman colonias blanquecinas a naranjas y en la tinción tienen el aspecto de bacilos largos, rectos, a veces curvos. Los miembros de los dos géneros se identifican mejor mediante el análisis de ácidos grasos de la pared celular o la secuenciación del gen de rRNA 16S. Estos microorganismos se han relacionado con diversas infecciones, por ejemplo, de heridas posoperatorias, pulmonares, infecciones hemáticas relacionadas con el catéter y secreción ótica. El tratamiento se ha basado en experiencias anecdóticas pero exige la eliminación de catéteres y el drenaje de abscesos. En casos de infecciones causadas por especies del género *Gordonia,* se han utilizado de manera satisfactoria para el tratamiento vancomicina, carbapenems, aminoglucósidos, fluoroquinolonas y linezolida. En el caso de las infecciones por *Tsukamurella*, se ha demostrado la susceptibilidad *in vitro*

a aminoglucósidos, sulfametoxazol, fluoroquinolonas, carbapenems y claritromicina.

ACTINOMICETOMA

El micetoma (pie de Madura) es una infección crónica, circunscrita, lentamente progresiva que comienza en el tejido subcutáneo y se disemina a los tejidos adyacentes; es destructiva y a menudo indolora. En muchos casos la causa es un hongo del suelo que se ha implantado en el tejido subcutáneo por traumatismos leves. Esta forma de micetomas se describe en el capítulo 45. Un actinomicetoma es causado por bacterias ramificantes filamentosas. El gránulo de actinomicetoma consta de elementos de tejido y bacilos grampositivos y cadenas bacilares o filamentos (1 μm de diámetro). Las causas más frecuentes de actinomicetomas son *Nocardia asteroides, Nocardia brasiliensis, Streptomyces somaliensis* y *Actinomadura madurae. N. brasiliensis* puede ser acidorresistente. Éstos y otros actinomicetos patógenos se diferencian por las pruebas bioquímicas y por el análisis cromatográfico de los componentes de la pared celular. Los actinomicetomas responden bien a diversas combinaciones de estreptomicina, trimetoprim-sulfametoxazol y dapsona si el tratamiento se comienza en las primeras etapas antes que haya ocurrido una lesión considerable.

A veces los estudiantes se confunden con los términos actinomicetos y actinomicosis. Los primeros ya se describieron antes; la actinomicosis es una infección causada por miembros del género grampositivo anaerobio *Actinomyces.* Los hongos del género *Actinomyces* y la enfermedad actinomicosis se describen con más detalle en el capítulo 21.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Hace tres meses una mujer de 53 años de edad fue sometida a una intervención quirúrgica y recibió quimioterapia por cáncer de mama. Hace cuatro semanas presentó una tos esporádicamente productiva de esputo purulento. Hace dos semanas, observó debilidad leve pero progresiva en el brazo izquierdo y en la pierna. En la exploración del tórax, se auscultaron estertores sobre la parte superior e izquierda de la espalda cuando la paciente respiraba profundamente. La exploración neurológica confirmó la debilidad del brazo y la pierna del lado izquierdo. Las radiografías torácicas mostraron un infiltrado en el lóbulo superior izquierdo. La tomografía computadorizada (CT) intensificada con medio de contraste demostró dos lesiones en el hemisferio derecho. La tinción de Gram de un espécimen de esputo purulento demostró bacilos grampositivos ramificantes que eran parcialmente acidorresistentes. ¿Cuál de los siguientes microorganismos es la causa del padecimiento actual de esta paciente?
   (A) *Actinomyces israelii*
   (B) *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*
   (C) *Aspergillus fumigatus*
   (D) *Nocardia asteroides*
   (E) *Erysipelothrix rhusiopathiae*
2. El fármaco indicado para tratar la infección de la paciente (pregunta 1) es
   (A) *Penicilina G*
   (B) Trimetoprim-sulfametoxazol
   (C) Gentamicina
   (D) Anfotericina B
   (E) Una cefalosporina de tercera generación
3. Es muy difícil diferenciar *Erysipelothrix rhusiopathiae* de
   (A) *Corynebacterium diphtheriae*
   (B) *Bacillus cereus*
   (C) *Actinomyces israelii*
   (D) *Nocardia asteroides*
   (E) Bacterias del género *Lactobacillus*
4. El movimiento de *Listeria monocytogenes* en el interior de las células hospedadoras es causado por
   (A) La activación de la polimerización de la actina en la célula hospedadora
   (B) La formación de pilosidades (fimbrias) en la superficie de las listerias
   (C) Formación de seudópodos
   (D) El movimiento de flagelos de las listerias
   (E) Motilidad tambaleante
5. Un niño de 8 años de edad presenta faringitis grave. En la exploración se observa exudado grisáceo (seudomembrana) sobre las amígdalas y la faringe. El diagnóstico diferencial de la faringitis grave como esta comprende infección por estreptococos del grupo A, infección por el virus de Epstein-Barr (EBV), faringitis por *Neisseria gonorrhoeae* y difteria. La causa de la faringitis del niño muy posiblemente es
   (A) Un bacilo gramnegativo
   (B) Un virus de RNA monocatenario de polaridad positiva
   (C) Un coco grampositivo productor de catalasa que se desarrolla en racimos
   (D) Un bacilo grampositivo de forma de bastón
   (E) Un virus de RNA bicatenario
6. El mecanismo principal en la patogenia de la enfermedad del niño (pregunta 5) es
   (A) Un incremento neto del monofosfato de adenosina cíclico intracelular
   (B) La acción de una exotoxina pirógena (un superantígeno)
   (C) Inactivación de la acetilcolina esterasa
   (D) Acción de la enterotoxina A
   (E) Inactivación del factor de elongación 2
7. *Corynebacterium jeikeium* es
   (A) Productor de catalasa
   (B) Gramnegativo
   (C) A menudo resistente a los antibióticos usuales
   (D) Móvil
   (E) Frecuente pero clínicamente no importante
8. ¿Cuál de los siguientes bacilos grampositivos aerobios es acidorresistente positivo modificado?
   (A) *Nocardia brasiliensis*
   (B) *Lactobacillus acidophilus*
   (C) *Erysipelothrix rhusiopathiae*
   (D) *Listeria monocytogenes*
9. La difteria cutánea se presenta en los niños en zonas tropicales que por lo general
   (A) No ocurre en niños que se han inmunizado con toxoide diftérico
   (B) Es clínicamente diferente de las infecciones cutáneas (piodermia, impétigo) causadas por *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus*
   (C) También es frecuente en las latitudes del norte
   (D) Produce concentraciones de antitoxina protectora en casi todos los niños entre los seis y ocho años de edad
   (E) Produce miocardiopatía mediada por toxinas
10. Un pescador de 45 años de edad se ensartó un anzuelo en su dedo medio derecho. Lo retiró y no buscó tratamiento médico inmediato. Cinco días después, presentó fiebre, dolor intenso y una tume-

facción nodular en el dedo. Buscó atención médica. Se aspiró el nódulo violáceo y después de 48 h de incubación, se observaron colonias de un bacilo grampositivo que producía pigmentación verdosa del agar y formaba ligamentos largos en el caldo de cultivo. La causa más probable de esta infección es

(A) *Lactobacillus acidophilus*
(B) *Erysipelothrix rhusiopathiae*
(C) *Listeria monocytogenes*
(D) *Rhodococcus equi*
(E) *Nocardia brasiliensis*

11. Una reacción bioquímica que es útil para identificar el microorganismo causal de la infección de la pregunta 10 es

(A) Producción de catalasa
(B) Acidorresistencia utilizando la tinción de Kinyoun modificada
(C) Hidrólisis de esculina
(D) Motilidad tambaleante
(E) Producción de H_2S

Respuestas

1. D	4. A	7. C	10. B
2. B	5. D	8. A	11. E
3. E	6. E	9. D	

BIBLIOGRAFÍA

Aerobic and facultative gram-positive bacilli. In *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th ed. Winn WC Jr et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2006, pp. 765-857.

Brown-Elliott BA, Brown JM, Conville PS, Wallace RJ, Jr. Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp. based on current molecular taxonomy. Clin Microbiol Rev 2006; 19:259-82. [PMID 16614249]

Conville PS, Witebsky FG. *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Gordonia*, *Actinomadura*, *Streptomyces*, and other aerobic Actinomycetes. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Deng Q, Barbieri JT: Molecular mechanisms of the cytotoxicity of ADP-ribosylating toxins. Annu Rev Microbiol 2008; 62:271-88. [PMID 18785839]

Drevets DA, Bronze MS: *Listeria monocytogenes*: epidemiology, human disease, and mechanisms of brain invasion. FEMS Immunol Med Microbiol 2008; 53:151-65. [PMID 18462388]

Dussurget O. New insights into determinants of *Listeria monocytogenes* virulence. Int Rev Cell Mol Biol 2008;270:1-38. [PMID 19081533]

Funke G et al: Clinical microbiology of coryneform bacteria. Clin Microbiol Rev 1997;10:125. [PMID: 8993861]

Funke G, Bernard KA: Coryneform gram-positive rods. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Reboli AC, Farrar WE: *Erysipelothrix rhusiopathiae*: an occupational pathogen. Clin Microbiol Rev 1989;2:354. [PMID: 2680056]

Sorrell TC, Mitchell DH, Iredell JR: *Nocardia* species. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

CAPÍTULO

13

Estafilococos

Los estafilococos son células esféricas grampositivas por lo general dispuestas en racimos irregulares parecidos a las uvas. Se desarrollan rápidamente en muchos tipos de medios y tienen actividad metabólica, fermentan carbohidratos y producen pigmentos que varían desde un color blanco hasta un amarillo intenso. Algunos son miembros de la microflora normal de la piel y las mucosas del ser humano; otros producen supuración, formación de abscesos, diversas infecciones piógenas e incluso septicemia mortal. Los estafilococos patógenos suelen producir hemólisis, coagular el plasma y producir diversas enzimas y toxinas extracelulares. El tipo de intoxicación alimentaria más frecuente se debe a una enterotoxina estafilocócica termoestable. Los estafilococos desarrollan con rapidez resistencia a muchos antimicrobianos y pueden plantear problemas terapéuticos difíciles.

El género *Staphylococcus* tiene por lo menos 40 especies. Las tres especies de importancia clínica que se observan más a menudo son *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus saprophyticus. S. aureus* es **coagulasa-positivo,** lo que lo distingue de otras especies. *S. aureus* es un patógeno importante en el ser humano. Casi todas las personas presentarán algún tipo de infección por *S. aureus* durante su vida, la cual fluctúa en gravedad desde una intoxicación alimentaria o infecciones cutáneas leves hasta infecciones graves que ponen en riesgo la vida. Los estafilococos coagulasa-negativos son microflora humana normal y a veces causan infecciones, a menudo relacionadas con dispositivos implantados, como prótesis articulares, derivaciones y catéteres intravasculares, sobre todo en los niños muy pequeños y en los pacientes inmunodeprimidos. Alrededor de 75% de estas infecciones causadas por estafilococos **coagulasa-negativos** se deben a *S. epidermidis;* las infecciones debidas a *Staphylococcus lugdunensis, Staphylococcus warneri, Staphylococcus hominis* y otras especies son menos frecuentes. *S. saprophyticus* es una causa relativamente frecuente de infecciones urinarias en mujeres jóvenes, aunque pocas veces produce infecciones en pacientes hospitalizados. Otras especies son importantes en medicina veterinaria.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Los estafilococos son bacterias esféricas de aproximadamente 1 μm de diámetro dispuestas en racimos irregulares (fig. 13-1). También se observan cocos individuales, pares, tétradas y cadenas en medios de cultivo líquidos. Los cocos jóvenes son intensamente grampositivos; al envejecer, muchas células se vuelven gramnegativas. Los estafilococos no son móviles y no forman esporas. Bajo la influencia de fármacos como la penicilina, los estafilococos experimentan lisis.

Las especies del género *Micrococcus* suelen parecerse a los estafilococos. Se encuentran en vida libre en el medio ambiente y forman conglomerados regulares de cuatro u ocho cocos. Sus colonias pueden ser de color amarillo, rojo o naranja. Los micrococos pocas veces producen enfermedad.

B. Cultivo

Los estafilococos crecen rápidamente en casi todos los medios bacteriológicos bajo condiciones aerobias o microaerofílicas. Se desarrollan con más rapidez a una temperatura de 37°C pero forman pigmento mejor a una temperatura ambiente (20 a 25°C). Las colonias en medios sólidos son redondas, lisas, elevadas y brillantes (fig. 13-2). *S. aureus* suele formar colonias de color gris a amarillo dorado profundo. Las colonias de *S. epidermidis* por lo general son grises a blancas en el aislamiento primario; muchas colonias forman pigmento sólo tras una incubación prolongada. No se produce pigmento en condiciones anaerobias o en caldo. *S. aureus* produce diversos grados de hemólisis y a veces otras especies también. Las especies de los géneros *Peptostreptococcus* y especies de *Peptoniphilus,* que son cocos anaerobios, a menudo se parecen a los estafilococos en sus características morfológicas. El género *Staphylococcus* contiene dos especies, *S. saccharolyticus* y *S. aureus* subespecie *anaerobius,* que al principio se desarrollan sólo bajo condiciones anaerobias pero que se vuelven más aerotolerantes en los subcultivos.

C. Características de crecimiento

Los estafilococos producen catalasa, lo cual los distingue de los estreptococos. Los estafilococos fermentan lentamente muchos carbohidratos y producen ácido láctico pero no gas. La actividad proteolítica varía mucho de una cepa a otra. Los estafilococos patógenos producen muchas sustancias extracelulares, toxinas y enzimas, las cuales se describen más adelante.

Los estafilococos son relativamente resistentes a la desecación, al calor (resisten una temperatura de 50°C durante 30 minutos) y

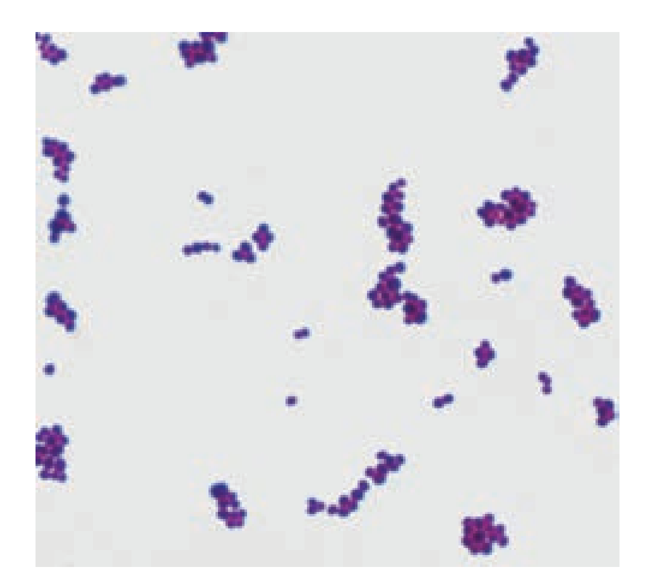


FIGURA 13-1 Tinción de Gram de *Staphylococcus aureus* que muestra cocos grampositivos dispuestos en pares, tétradas y racimos. Amplificación original × 1 000. (Cortesía de L. Ching.)

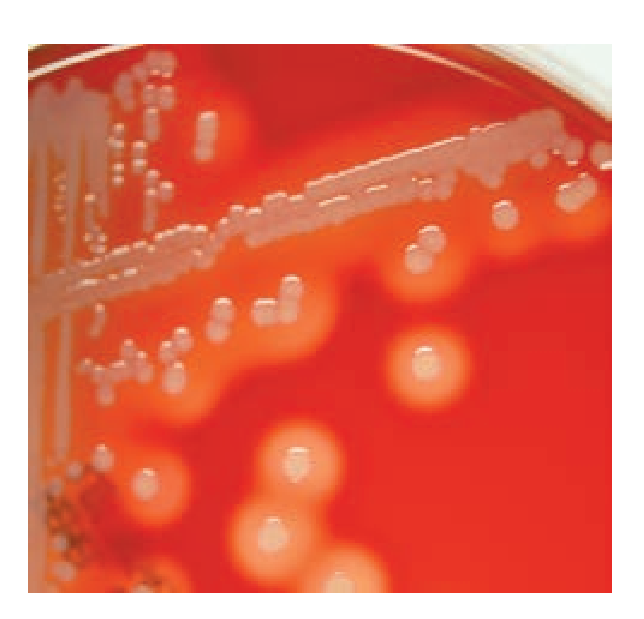


FIGURA 13-2 Colonias de *Staphylococcus aureus* en una placa de agar sangre después de la incubación durante 24 horas. Las colonias de color gris amarillo tienen 3 a 4 mm de diámetro en la placa de 10 cm. Las colonias están rodeadas por zonas claras de hemólisis de aproximadamente 1 cm de diámetro. (Cortesía de H. Reyes.)

al cloruro de sodio al 9% pero son inhibidos fácilmente por determinadas sustancias químicas, por ejemplo, hexaclorofeno al 3%.

Los estafilococos tienen una sensibilidad variable a muchos antimicrobianos. La resistencia se clasifica en varias clases:

1. La producción de lactamasa β es frecuente, está sujeta a control por plásmido y hace que los microorganismos sean resistentes a muchas penicilinas (penicilina G, ampicilina, ticarcilina, piperacilina y fármacos afines). Los plásmidos son transmitidos mediante transducción y tal vez mediante conjugación.
2. La resistencia a la nafcilina (y a la meticilina y la oxacilina) es independiente de la producción de lactamasa β. La resistencia a la nafcilina es codificada y regulada por una serie de genes que se encuentran en una región del cromosoma denominada el casete cromosómico estafilocócico *mec* (*SCCmec, staphylococcal cassette chromosome mec*). Específicamente, el gen *mecA* en este locus codifica una proteína fijadora de penicilina (PBP2a, *penicillin binding protein*) de baja afinidad que es la que interviene en la resistencia. Existen diferentes tipos de *SCCmec*. Los de tipos I, II y III se relacionan con infecciones intrahospitalarias y pueden contener genes que codifican la resistencia también a otros antimicrobianos. *SCCmec* de tipo IV se ha observado principalmente en las cepas de MRSA extrahospitalarias (CA-MRSA, *community-acquired meticilline resistant staphylococcus aureus*) que tienden a ser menos resistentes, más transmisibles y la causa de brotes epidémicos en el último decenio en Estados Unidos y en algunos países de Europa.
3. En Estados Unidos, *S. aureus* y *S. lugdunensis* se consideran susceptibles a la vancomicina si la concentración inhibidora mínima (MIC, *minimum inhibitory concentration*) es ≤2 μg/ml; de susceptibilidad intermedia si la MIC es de 4 a 8 μg/ml; y resistentes si la MIC es ≥16 μg/ml. Las cepas de *S. aureus* con susceptibilidad intermedia a la vancomicina se han aislado de Japón, Estados Unidos y muchos otros países. A menudo se conocen como *S. aureus* con resistencia intermedia a la vancomicina o "VISA" (*vancomycin-intermediate S. aureus*). Por lo general se han aislado de pacientes con infecciones complejas que han recibido tratamiento prolongado con vancomicina. A menudo el tratamiento con vancomicina no ha sido eficaz. El mecanismo de la resistencia se relaciona con un incremento en la síntesis de pared celular y alteraciones de la misma y no se debe a los genes *van* que se encuentran en los enterococos. Las cepas de *S. aureus* de susceptibilidad intermedia a la vancomicina por lo general son resistentes a la nafcilina pero generalmente son susceptibles a las oxazolidinonas y a quinupristina/dalfopristina.
4. Desde 2002, se aislaron varias cepas de *S. aureus* resistente a la vancomicina (VRSA, *vancomycin-resistant S. aureus*) en pacientes estadounidenses. Las cepas contenían el gen de la resistencia a la vancomicina *vanA* de los enterococos (cap. 14) y el gen de resistencia a la nafcilina *mecA* (véase antes). Las dos cepas iniciales de VRSA eran susceptibles a los otros antibióticos. La resistencia de *S. aureus* a la vancomicina es un problema importante en todo el mundo.
5. La resistencia mediada por plásmido a tetraciclinas, eritromicina, aminoglucósidos y otros fármacos es frecuente en los estafilococos.
6. La "tolerancia" implica que los estafilococos son inhibidos por un fármaco pero no destruidos por el mismo; es decir, hay una gran diferencia entre las concentraciones mínimas inhibidoras y las concentraciones mínimas letales de un antimicrobiano. Los pacientes con endocarditis causada por un *S. aureus* tolerante pueden tener una evolución clínica prolongada en comparación con los pacientes que tienen endocarditis causada por un *S. aureus* completamente susceptible. La tolerancia a veces puede atribuirse a la falta de activación de enzimas autolíticas en la pared celular.

D. Variación

Un cultivo de estafilococos contiene algunas bacterias que difieren de la mayor parte de la población en su expresión de carac-

terísticas de la colonia (tamaño de la colonia, pigmento, hemólisis), en la elaboración de enzimas, en la resistencia a fármacos y en su patogenicidad. *In vitro*, la expresión de estas características está sujeta a la influencia de las condiciones de desarrollo: cuando se incuba *S. aureus* resistente a nafcilina a una temperatura de 37°C en agar sangre, uno de cada 10^7 microorganismos expresa resistencia a la nafcilina; cuando se incuba a una temperatura de 30°C en agar que contiene cloruro de sodio al 2 a 5%, uno de cada 10^3 microorganismos expresa resistencia a la nafcilina.

Estructura antigénica

Los estafilococos contienen polisacáridos y proteínas antigénicos así como otras sustancias importantes en la estructura de la pared celular. El peptidoglucano, un polímero de polisacárido que contiene subunidades ligadas, proporciona el exoesqueleto rígido de la pared celular. El peptidoglucano es destruido por ácido potente o por la exposición a lisozimas. Es importante en la patogenia de la infección: desencadena la producción de interleucina-1 (pirógeno endógeno) y anticuerpos opsónicos por parte de los monocitos y puede ser quimioatrayente para los leucocitos polimorfonucleares, tiene actividad endotoxínica y activa el complemento.

Los ácidos teicoicos, que son polímeros de fosfato de glicerol o de ribitol, están vinculados al peptidoglucano y pueden ser antigénicos. Los anticuerpos antiácido teicoico detectables mediante difusión en gel pueden encontrarse en los pacientes con endocarditis activa debida a *S. aureus.*

La proteína A es un componente de la pared celular de las cepas de *S. aureus* y es además una proteína de la superficie bacteriana que se ha caracterizado entre un grupo de adhesinas denominadas componentes de superficie microbianos que reconocen las moléculas de matriz adhesiva (MSCRAMMS, *microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules*). La adherencia bacteriana a las células anfitrionas es mediada por MSCRAMMS y estos son factores de virulencia importantes. La proteína A se une a la porción Fc de las moléculas de IgG excepto IgG_3. La porción Fab de la IgG unida a la proteína A está libre para combinarse con un antígeno específico. La proteína A se ha convertido en un reactivo importante en inmunología y en tecnología de laboratorio diagnóstico; por ejemplo, la proteína A con las moléculas de IgG adheridas dirigidas contra un antígeno bacteriano específico aglutinarán bacterias que tienen ese antígeno (“**coaglutinación**”).

Algunas cepas de *S. aureus* tienen cápsulas, que inhiben la fagocitosis por los leucocitos polimorfonucleares a menos que haya anticuerpos específicos presentes. La mayor parte de las cepas de *S. aureus* tienen coagulasa, un factor de aglutinación, en la superficie de la pared celular; la coagulasa se une de manera no enzimática al fibrinógeno, generando agregación de las bacterias.

Las pruebas serológicas tienen una escasa utilidad para identificar estafilococos.

Enzimas y toxinas

Los estafilococos pueden producir enfermedad a través de su capacidad para multiplicarse y diseminarse ampliamente en los tejidos y a través de su producción de muchas sustancias extracelulares. Algunas de estas sustancias son enzimas; otras se consideran toxinas, aunque pueden funcionar como enzimas. Muchas de las toxinas están sujetas al control genético de los plásmidos; algunas pueden estar sujetas a control cromosómico y extracromosómico; en el caso de otras no está bien definido el mecanismo de control genético.

A. Catalasa

Los estafilococos producen catalasa, la cual convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. La prueba de catalasa diferencia los estafilococos, que son positivos, de los estreptococos, que son negativos.

B. Coagulasa y factor de aglutinación

S. aureus produce coagulasa, una proteína semejante a una enzima que coagula el plasma oxalado o citratado. La coagulasa se une a la protrombina; en conjunto pueden volverse enzimáticamente activas e iniciar la polimerización de fibrina. La coagulasa puede depositar fibrina en la superficie de los estafilococos, alterando tal vez su ingestión por las células fagocíticas o su destrucción dentro de tales células. La producción de coagulasa se considera sinónimo del potencial patógeno invasor.

Otro ejemplo de un MSCRAMM es el **factor de aglutinación** que interviene en la adherencia de los microorganismos al fibrinógeno y a la fibrina. Cuando se mezcla con plasma, *S. aureus* forma racimos. El factor de aglutinación es distinto a la coagulasa. Puesto que el factor de aglutinación desencadena una respuesta inmunógena potente en el hospedador, ha sido el centro de recientes esfuerzos para desarrollar una vacuna. Los anticuerpos monoclonales humanizados que evitan la fijación del factor de aglutinación al fibrinógeno se encuentran en estudios clínicos en combinación con antibióticos para el tratamiento de la bacteriemia por *S. aureus* (Weems et al., 2006).

C. Otras enzimas

Otras enzimas producidas por estafilococos incluyen una hialuronidasa, o factor de propagación; una estafilocinasa que produce fibrinólisis pero que tiene una acción mucho más lenta que la estreptocinasa; proteinasas; lipasas; y lactamasa β.

D. Exotoxinas

La toxina α es una proteína heterogénea que ejerce acción sobre una amplia gama de membranas celulares eucariotas. La toxina α es una hemolisina potente. La toxina β degrada esfingomielina y por tanto es tóxica para muchas clases de células, incluidos los eritrocitos humanos. La toxina δ es heterogénea y se disocia en subunidades en detergentes no iónicos. Destruye membranas biológicas y participa en las enfermedades diarreicas por *S. aureus.* La hemolisina γ se refiere a las tres proteínas que interaccionan con las dos proteínas que comprenden la leucocidina de Panton-Valentine (véase más adelante) para formar seis potenciales toxinas de dos componentes. Estas seis toxinas proteínicas pueden producir lisis eficiente de los leucocitos al causar la formación de poros en las membranas celulares que incrementan la permeabilidad a los cationes. Esto desencadena la liberación masiva de mediadores inflamatorios como IL-8, leucotrienos e histamina que intervienen en la necrosis y la inflamación grave.

E. Leucocidina de Panton-Valentine

Esta toxina de *S. aureus* tiene dos componentes. Puede destruir leucocitos de seres humanos y conejos. Los dos compo-

nentes designados como S y F tienen una acción sinérgica sobre la membrana de los leucocitos como se describió antes para la toxina γ. Esta toxina es un factor de virulencia importante en las infecciones extrahospitalarias por *S. aureus* resistentes a la meticilina.

F. Toxinas exfoliativas

Estas toxinas epidermolíticas de *S. aureus* son dos proteínas distintas que tienen el mismo peso molecular. La toxina A epidermolítica es el producto de un gen cromosómico y es termoestable (resiste a la ebullición durante 20 minutos). La toxina B epidermolítica es mediada por plásmido y es termolábil. Las toxinas epidermolíticas producen la descamación generalizada de la epidermólisis estafilocócica aguda al disolver la matriz de mucopolisacárido de la epidermis. Las toxinas son superantígenos.

G. Toxina del síndrome de choque tóxico

La mayor parte de las cepas de *S. aureus* que se aíslan en pacientes con el síndrome de choque tóxico produce una toxina denominada **toxina-1 del síndrome de choque tóxico** (TSST-1, *toxic shock syndrome toxin-1*), que es la misma que la enterotoxina F. La TSST-1 es el **superantígeno** prototipo (cap. 8). La TSST-1 se une a moléculas MHC clase II, estimulando al linfocito T, lo que favorece las manifestaciones diversas del síndrome de choque tóxico. La toxina se acompaña de fiebre, choque y afectación multiorgánica, lo que comprende un exantema descamativo. El gen de la TSST-1 se detecta en casi 20% de las cepas de *S. aureus,* incluido MRSA.

H. Enterotoxinas

Hay múltiples enterotoxinas (A-E, G-J, K-R y U, V). Aproximadamente 50% de las cepas de *S. aureus* puede producir una o más de ellas. Al igual que TSST-1, las enterotoxinas son superantígenos. Las enterotoxinas son termoestables y resistentes a la acción de las enzimas intestinales. Las enterotoxinas, que son causas importantes de intoxicación alimentaria, se producen cuando *S. aureus* se desarrolla en alimentos que contienen hidratos de carbono y proteínas. La ingestión de 25 μg de enterotoxina B produce vómitos y diarrea. El efecto vomitivo de la enterotoxina probablemente es resultado de la estimulación del sistema nervioso central (centro del vómito) después que la toxina actúa sobre los receptores neurales en el intestino.

Las toxinas exfoliativas, TSST-1 y los genes de la enterotoxina se encuentran en un elemento cromosómico denominado isla de patogenicidad. Interacciona con elementos genéticos complementarios (bacteriófagos) para producir las toxinas.

Patogenia

Los estafilococos, sobre todo *S. epidermidis,* son miembros de la microflora normal de la piel humana y del sistema respiratorio y digestivo. Veinte a 50% de los seres humanos son portadores nasales de *S. aureus.* Los estafilococos también se detectan con regularidad en ropa, ropa de cama y otros fómites en ambientes humanos.

La capacidad patógena de una determinada cepa de *S. aureus* es el efecto combinado de factores extracelulares y toxinas junto con las propiedades invasivas de la cepa. En un extremo de la gama de la enfermedad está la intoxicación alimentaria estafilocócica, que se atribuye únicamente a la ingestión de la enterotoxina preelaborada; en el otro extremo están la bacteriemia estafilocócica y los abscesos diseminados en todos los órganos.

S. aureus patógeno invasivo produce coagulasa y tiende a producir un pigmento amarillo y a ser hemolítico. Los estafilococos no patógenos y no invasivos como *S. epidermidis* son coagulasa-negativos y tienden a ser no hemolíticos. Tales microorganismos pocas veces producen supuración pero pueden infectar prótesis ortopédicas o cardiovasculares o ser causa de enfermedades en las personas inmunodeprimidas. Pueden ser resistentes al tratamiento debido a la formación de biopelículas. *S. saprophyticus* suele ser no pigmentado, resistente a la novobiocina y no hemolítico; produce infecciones urinarias en mujeres jóvenes.

Regulación de los factores determinantes de la virulencia

La expresión de los factores estafilocócicos determinantes de la virulencia es regulada por varios sistemas que son sensibles a las señales ambientales. Estos sistemas constan de dos proteínas (sistemas de dos componentes), una cinasa sensora y un regulador de respuesta. La fijación de sensores a ligandos extracelulares específicos, o a un receptor, produce una cascada de fosforilación que da lugar a la fijación del regulador a secuencias específicas de DNA, lo que finalmente lleva a la activación de las funciones de regulación de la transcripción. *S. aureus* contiene varios sistemas reguladores de dos componentes bien descritos. Éstos comprenden *agr,* el mejor descrito, *sae RS, srrAB, arlSR* y *lytRS.*

El regulador del gen accesorio (*agr*) es esencial en el control de percepción de quórum de la expresión génica. Controla la expresión preferente de adhesinas de superficie (proteína A, coagulasa y proteína fijadora de fibronectina) así como la producción de exoproteínas (toxinas como TSST-1), lo que depende de la fase del crecimiento (y por tanto de la densidad bacteriana).

A una baja densidad celular, el promotor P2 es inactivado y son bajas las concentraciones de transcripciones de proteína transmembrana, AgrB, precursor de péptido, AgrD, sensor transmembrana, AgrC y regulador de transcripción, Agr A. Conforme aumenta la densidad celular durante la fase de crecimiento estacionario, el sensor AgrC activa el regulador AgrA. AgrA es una proteína fijadora de DNA que activa al promotor P2 y al promotor P3. Este último inicia la transcripción de hemolisina δ y un efector denominado RNAIII, que disminuye la expresión de las adhesinas de superficie y activa la secreción de exoproteínas tanto a nivel de transcripción como de traducción. *Agr* también es controlado positivamente por una proteína fijadora de DNA denominada SarA (codificada por *sar*) y posiblemente por otros sistemas reguladores.

Se ha demostrado que por lo menos cuatro sistemas reguladores adicionales de dos componentes modifican la expresión del gen de virulencia. Éstos se denominan *sae,* exoproteínas de *S. aureus; srrAB,* respuesta respiratoria estafilocócica; *arlS,* sensor de locus relacionado con autólisis y *lytRS. Sae* regula la expresión génica a nivel de transcripción y es esencial para producir toxina α, hemolisinas β y coagulasa. Su actividad es independiente a la de *agr. ssrAB* es importante para la regulación de la expresión del factor de virulencia que está influido por el oxígeno ambiental. El locus *arlSR* es importante para el control de la autólisis

y también disminuye la activación del locus *agr*. El locus *lytRS* también interviene en la autólisis.

Anatomía patológica

El prototipo de una lesión estafilocócica es el furúnculo u otro absceso circunscrito. Grupos de *S. aureus* establecidos en un folículo piloso producen necrosis del tejido (factor dermonecrótico). Se produce coagulasa y coagula la fibrina alrededor de la lesión y dentro de los linfáticos, lo que da por resultado la formación de una pared que limita el proceso y es reforzada por acumulación de células inflamatorias y, más tarde, de tejido fibroso. En el centro de la lesión, ocurre la licuefacción del tejido necrótico (intensificada por la hipersensibilidad tardía) y el absceso "apunta" hacia la dirección de menos resistencia. Después del drenaje del centro líquido de tejido necrótico la cavidad se llena lentamente con tejido de granulación y después hay cicatrización.

La supuración focal (absceso) es característica de la infección estafilocócica. Desde cualquier punto, los microorganismos pueden diseminarse a través de los linfáticos y la circulación sanguínea a otras partes del organismo. La supuración dentro de las venas, asociada a la trombosis, es una característica frecuente de tal diseminación. En la osteomielitis, el centro primario del crecimiento de *S. aureus* suele ser un vaso sanguíneo terminal de la metáfisis de un hueso largo, lo que desencadena necrosis del hueso y supuración crónica. *S. aureus* puede ser causa de neumonía, meningitis, empiema, endocarditis o septicemia con formación de pus en cualquier órgano. Los estafilococos de baja invasividad intervienen en muchas infecciones cutáneas (p. ej., acné, piodermia o impétigo). Los cocos anaerobios (*Peptostreptococcus*) participan en las infecciones anaerobias mixtas.

Los estafilococos también causan enfermedad mediante la elaboración de toxinas, sin una infección invasiva manifiesta. La exfoliación ampollosa, el síndrome de epidermólisis estafilocócica aguda, es causada por la producción de toxinas exfoliativas. El síndrome de choque tóxico se relaciona con TSST-1.

Manifestaciones clínicas

Una infección estafilocócica circunscrita aparece como un "grano", infección del folículo piloso o absceso. Suele haber una reacción inflamatoria intensa, circunscrita y dolorosa que supura del centro y que cicatriza con rapidez cuando se drena el pus. La pared de fibrina y las células alrededor del centro del absceso tienden a evitar la diseminación de los microorganismos y no deben destruirse mediante manipulación o traumatismo.

La infección por *S. aureus* también se debe a la contaminación directa de una herida, por ejemplo, infección de una herida posoperatoria por estafilococos o infección después de un traumatismo (osteomielitis crónica subsiguiente a una fractura abierta, meningitis consecutiva a una fractura del cráneo).

Si *S. aureus* se disemina y sobreviene bacteriemia, es posible que se presente endocarditis, osteomielitis hematógena aguda, meningitis o infección pulmonar. Los cuadros clínicos se parecen a los observados en otras infecciones del torrente sanguíneo. La localización secundaria en un órgano o sistema se acompaña de signos y síntomas de disfunción orgánica y supuración focal intensa.

La intoxicación alimentaria debida a enterotoxina estafilocócica se caracteriza por un periodo de incubación breve (1 a 8 h), náusea y vómito intensos, así como diarrea y una rápida convalecencia. No hay fiebre.

El síndrome de choque tóxico se manifiesta por la instauración brusca de fiebre alta, vómito, diarrea, mialgias, un exantema escarlatiniforme e hipotensión con insuficiencia cardiaca y renal en los casos más graves. A menudo ocurre en los primeros cinco días después del inicio de la menstruación en mujeres jóvenes que utilizan tampones, pero también ocurre en niños o en varones con heridas infectadas por estafilococos. El síndrome puede experimentar recidiva. *S. aureus* relacionado con el síndrome de choque tóxico puede encontrarse en la vagina, en tampones, en heridas o en otras infecciones circunscritas, o en la faringe, pero prácticamente nunca en la circulación sanguínea.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

El pus de la superficie, sangre, aspirado traqueal o líquido cefalorraquídeo para cultivo, dependiendo de la ubicación del proceso infeccioso, son muestras apropiadas para análisis.

B. Frotis

Los estafilococos característicos aparecen como cocos grampositivos en racimos en frotis de pus o de esputo teñidos con la técnica de Gram. No es posible distinguir microorganismos saprófitos (*S. epidermidis*) de los patógenos (*S. aureus*) en los frotis.

C. Cultivo

Las muestras sembradas en placas de agar sangre originan colonias características en un término de 18 h a una temperatura de 37°C, pero es posible que no haya hemólisis ni producción de pigmentos hasta varios días después y son óptimos a una temperatura ambiente. *S. aureus* fermenta manitol pero otros estafilococos, no. Las muestras contaminadas con una microflora mixta pueden cultivarse en medios que contienen NaCl al 7.5%; la sal inhibe la mayor parte de la demás microflora normal pero no *S. aureus*. El agar de sal y manitol o los medios cromógenos disponibles en el comercio se utilizan para detectar portadores nasales de *S. aureus* y pacientes con fibrosis quística.

D. Prueba de la catalasa

Esta prueba se utiliza para detectar la presencia de enzimas citocromo oxidasa. Se coloca una gota de una solución de peróxido de hidrógeno al 3% en un portaobjetos y se aplica una pequeña cantidad del crecimiento bacteriano en la solución. La formación de burbujas (liberación de oxígeno) indica una prueba positiva.

E. Prueba de la coagulasa

El plasma de conejo (o humano) citratado diluido 1:5 se mezcla con un volumen igual de caldo de cultivo o del cultivo proveniente de colonias crecidas en agar y se incuba a una temperatura de 37°C. Se incluye como control un tubo de ensayo con plasma mezclado con caldo estéril. Si se forman coágulos en un lapso de 1 a 4 h, la prueba es positiva.

Los estafilococos productores de coagulasa se consideran patógenos para el ser humano; sin embargo, los estafilococos productores de coagulasa de perros (*Staphylococcus intermedius*) y delfines (*Staphylococcus delphini*) pocas veces producen enfermedad en el ser humano. Las infecciones de dispositivos protésicos pueden deberse a microorganismos del grupo de *S. epidermidis* coagulasa negativo.

F. Pruebas de susceptibilidad

Las pruebas de susceptibilidad mediante microdilución en caldo o de difusión en disco deben realizarse en forma sistemática en cepas de estafilococos de infecciones clínicamente relevantes. La resistencia a la penicilina G puede pronosticarse por una prueba positiva para lactamasa β; aproximadamente 90% de las cepas de *S. aureus* produce lactamasa β. La resistencia a la nafcilina (y oxacilina y meticilina) ocurre en casi 65% de las cepas de *S. aureus* y en aproximadamente 75% de las cepas de *S. epidermidis.* La resistencia a la nafcilina se correlaciona con la presencia de *mecA*, el gen que codifica una proteína fijadora de penicilina (PBP2a) que no es afectado por estos fármacos. El gen puede detectarse utilizando la reacción en cadena de la polimerasa. Casi todos los laboratorios clínicos utilizan un método fenotípico como la detección en placa de agar con oxacilina. Los estafilococos que crecen en agar de Mueller-Hinton que contiene NaCl al 4% y 6 μg/ml de oxacilina suelen ser positivos para *mecA* y resistentes a nafcilina. Como alternativa, se dispone en el comercio de una prueba para el producto del gen *mecA,* PBP2a, y es mucho más rápido que la PCR para *mecA* o que las pruebas de resistencia utilizando el desarrollo en agar sal que contiene oxacilina.

G. Pruebas serológicas y de tipificación

Las pruebas serológicas para el diagnóstico de las infecciones por *S. aureus* tienen escasa utilidad práctica.

Los patrones de susceptibilidad a antibióticos son útiles para el rastreo de las infecciones por *S. aureus* y para determinar si múltiples cepas de *S. epidermidis* de hemocultivos representan bacteriemia debida a la misma cepa, sembrada por un nido de infección.

Se han utilizado las técnicas de tipificación molecular para documentar la diseminación de clones de *S. aureus* que producen enfermedad epidémica. La electroforesis en gel de campo pulsado y la tipificación de secuencia multilocus son muy discriminatorias.

Tratamiento

La mayoría de las personas alberga estafilococos en la piel y en la nariz o en la faringe. Aun cuando la piel pueda despejarse de estafilococos (p. ej., en el eccema), la reinfección por las gotículas ocurrirá casi de inmediato. Puesto que los microorganismos patógenos suelen diseminarse de una lesión (p. ej., un furúnculo) a otra zona de la piel por los dedos y las prendas de vestir, es importante la antisepsia local meticulosa para controlar la furunculosis recidivante.

Las múltiples infecciones cutáneas importantes (acné, furunculosis) ocurren muy a menudo en los adolescentes. Las infecciones cutáneas similares se presentan en los pacientes que reciben ciclos prolongados de corticoesteroides. En el acné, las lipasas de estafilococos y corinebacterias liberan ácidos grasos provenientes de lípidos y por tanto producen irritación del tejido. Se utilizan tetraciclinas para el tratamiento a largo plazo.

Los abscesos y otras lesiones purulentas cerradas se tratan mediante drenaje, el cual es esencial, y tratamiento antimicrobiano. Muchos fármacos antimicrobianos tienen algún efecto contra los estafilococos *in vitro*. Sin embargo, es difícil erradicar los estafilococos patógenos en personas infectadas, pues los microorganismos rápidamente desarrollan resistencia a muchos antimicrobianos y los fármacos no pueden ejercer su acción en la porción necrótica central de una lesión supurativa. También es difícil erradicar el estado de portador de *S. aureus.*

La osteomielitis hematógena aguda responde bien a los antimicrobianos. En la osteomielitis crónica y recurrente, el drenaje quirúrgico y la resección del tejido óseo necrótico se acompaña de la administración a largo plazo de fármacos apropiados, pero es difícil erradicar los estafilococos infectantes. El oxígeno hiperbárico y la aplicación de colgajos miocutáneos vascularizados han ayudado a la cicatrización en la osteomielitis crónica.

La bacteriemia, la endocarditis, la neumonía y otras infecciones graves por *S. aureus* requieren tratamiento intravenoso prolongado con una penicilina resistente a lactamasa β. La vancomicina suele reservarse para utilizarse contra los estafilococos resistentes a nafcilina. En los últimos años, un incremento de las MIC para la vancomicina entre muchas cepas de MRSA tomadas de pacientes hospitalizados ha hecho que los médicos busquen tratamientos alternativos. Entre los fármacos alternativos para tratar la bacteriemia por MRSA y la endocarditis están los antimicrobianos más recientes como daptomicina, linezolida, quinupristina-dalfopristina (cap. 28). Asimismo, estos compuestos pueden ser bactericidas y ofrecen alternativas cuando las alergias impiden el empleo de otros compuestos o cuando la infección del paciente parece estar cediendo desde el punto de vista clínico. Sin embargo, el empleo de estos fármacos debe comentarse con los infectólogos o los farmacólogos, ya que los efectos secundarios y la farmacocinética de cada uno son muy singulares. Si se encuentra que la infección se debe a *S. aureus* no productor de lactamasa β, la penicilina G es el fármaco de elección, pero pocas veces se detectan estas cepas de *S. aureus*.

Las infecciones por *S. epidermidis* son difíciles de curar en virtud de que ocurren en dispositivos protésicos donde las bacterias se pueden aislar por sí mismas en una biopelícula. *S. epidermidis* suele ser más resistente a los antimicrobianos que *S. aureus;* aproximadamente 75% de las cepas de *S. epidermidis* es resistente a nafcilina.

Dada la frecuencia de cepas resistentes, las cepas de estafilococos importantes deben analizarse para determinar su susceptibilidad a antimicrobianos y para facilitar la selección de fármacos sistémicos. La resistencia a los fármacos del grupo de la eritromicina tiende a surgir con tanta rapidez que estos antimicrobianos no deben utilizarse en forma individual para tratar la infección crónica. La resistencia a los fármacos (penicilinas, tetraciclinas, aminoglucósidos, eritromicinas, etc.) determinada por plásmidos puede transmitirse entre los estafilococos mediante transducción y tal vez por conjugación.

Las cepas de *S. aureus* resistentes a la penicilina G provenientes de infecciones clínicas siempre producen penicilinasa. Constituyen más de 95% de las cepas de *S. aureus* en algunas poblaciones estadounidenses. A menudo son susceptibles a penicilinas resistentes a la lactamasa β, cefalosporinas o vancomicina. La resistencia a la nafcilina es independiente de la producción de lactamasa β y su incidencia clínica varía mucho en diferentes países y en diferentes épocas.

Es posible que la presión de selección de los antimicrobianos resistentes a la lactamasa β no sea el único factor determinante de la resistencia a estos fármacos. Por ejemplo, en Dinamarca, *S. aureus* resistente a la nafcilina comprendía 40% de las cepas en 1970 y sólo 10% en 1980, sin cambios notables en el empleo de nafcilina o fármacos afines. En Estados Unidos, *S. aureus* resistente a la nafcilina representaba sólo 0.1% de las cepas en 1970, pero en la década de 1990, constituyó 20 a 30% de las cepas aisladas de infecciones en algunos hospitales. En 2003, 60% de las cepas de *S. aureus* intrahospitalarias en pacientes internados en unidades de cuidados intensivos era resistente a nafcilina. Por suerte, las cepas de *S. aureus* de susceptibilidad intermedia a la vancomicina han sido relativamente infrecuentes y ha sido raro el aislamiento de cepas resistentes a la vancomicina.

Epidemiología y control

Los estafilococos son parásitos humanos ubicuos. Las principales fuentes de infección son lesiones humanas que los diseminan, fómites contaminados de tales lesiones y el sistema respiratorio y la piel del ser humano. La diseminación de la infección por contacto ha asumido mayor importancia en hospitales, donde una gran proporción del personal y de los pacientes es portadora de estafilococos resistentes a los antibióticos en la cavidad nasal o en la piel. Aunque la limpieza, la higiene y el tratamiento aséptico de las lesiones permiten controlar la propagación de los estafilococos a partir de lesiones, se dispone de pocos métodos para prevenir la diseminación amplia de estafilococos de portadores. Los aerosoles (p. ej., glicoles) y la radiación ultravioleta del aire han tenido poco efecto.

En los hospitales, las zonas de máximo riesgo para las infecciones estafilocócicas graves son las salas de recién nacidos, las unidades de cuidados intensivos, los quirófanos y las salas de quimioterapia para cáncer. La introducción masiva de *S. aureus* patógeno "epidémico" en estas áreas puede provocar enfermedad clínica importante. El personal con lesiones activas por *S. aureus* y los portadores tienen que excluirse de estas áreas. En tales personas, la aplicación de antisépticos tópicos como mupirocina en los lugares de portación nasal o perineal puede reducir la diseminación de microorganismos peligrosos. La rifampicina junto con un segundo fármaco antiestafilocócico oral a veces suprime a largo plazo y posiblemente cura al portador nasal; esta forma de tratamiento suele reservarse para los problemas importantes de portación de estafilococos, pues éstos rápidamente pueden desarrollar resistencia a la rifampicina.

Para disminuir la transmisión en el ámbito hospitalario, los pacientes con alto riesgo, como los que están internados en las unidades de cuidados intensivos y los que son transferidos desde unidades de atención crónica donde es elevada la prevalencia, a menudo se evalúan para determinar si tienen colonización en las narinas. Los pacientes con pruebas positivas de cultivo o PCR están sujetos a las precauciones de contacto a fin de minimizar la propagación en las manos del personal de atención a la salud. El personal debe apegarse estrictamente a las políticas de control de infección utilizando guantes y lavándose las manos antes y después del contacto con el paciente.

Hasta hace relativamente poco tiempo, *S. aureus* resistente a la meticilina estaba confinado principalmente al ámbito hospitalario. La diseminación mundial de algunos clones distintivos de CA-MRSA ha producido un incremento de las infecciones de la piel y tejidos blandos y neumonía necrosante, principalmente en pacientes más jóvenes sin factores de riesgo conocidos para la adquisición de MRSA. Estas cepas al parecer son más virulentas. Las cepas de CA-MRSA se caracterizan por la presencia de la leucocidina de Panton-Valentine y la presencia del casete cromosómico estafilocócico *mec* tipo IV, lo cual puede explicar la mayor susceptibilidad a otros antimicrobianos en comparación con las cepas de MRSA relacionadas con la atención a la salud.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una mujer de 54 años de edad presenta un absceso en el hombro derecho con una cepa de *Staphylococcus aureus* que es resistente a la nafcilina. Se trató con un esquema de vancomicina intravenosa durante dos semanas y mejoró. Tres semanas más tarde (semana 5) hubo recidiva de la infección y recibió vancomicina intravenosa durante dos semanas más y de nuevo mejoró. Cuatro semanas más tarde (semana 11), la infección recurrió y se indicó vancomicina intravenosa. Las MIC de la vancomicina para las cepas de *Staphylococcus aureus* fueron las siguientes: cepa inicial (día 1), 1 μg/ml; semana 5, 2 μg/ml; y semana 11, 8 μg/ml. La paciente no mejoró con el tercer ciclo de vancomicina y se utilizó un tratamiento alternativo. El mecanismo que explica mejor la resistencia relativa de esta cepa de *Staphylococcus aureus* a la vancomicina es
   (A) Adquisición del gen *vanA* de otro microorganismo
   (B) Transporte activo de la vancomicina fuera de la célula de *Staphylococcus aureus*
   (C) Acción de la lactamasa β
   (D) Incremento de la síntesis de la pared celular y alteraciones de la estructura de la pared celular
   (E) Fosforilación e inactivación resultante de la vancomicina
2. Un niño de 11 años de edad presenta fiebre leve y dolor en el brazo. Una radiografía de su brazo muestra una lesión lítica (disolución) en la porción superior del húmero con elevación del periostio sobre la lesión. El paciente se somete a una intervención quirúrgica en la cual se efectúa desbridamiento de la lesión (se reseca el hueso necrótico y se elimina el pus). El cultivo de la lesión revela cocos grampositivos. Una prueba muestra que el microorganismo es un estafilococo y no un estreptococo. Basándose en esta información, se sabe que el microorganismo es
   (A) Susceptible a la nafcilina
   (B) Positivo para lactamasa β
   (C) Productor de proteína A
   (D) Encapsulado
   (E) Catalasa positivo
3. Un varón de 36 años de edad tiene un absceso por una cepa de *Staphylococcus aureus* que es lactamasa β positiva. Esto indica que el microorganismo es resistente a cuál de los siguientes antibióticos
   (A) Penicilina G, ampicilina y piperacilina
   (B) Trimetoprim-sulfametoxazol
   (C) Eritromicina, claritromicina y azitromicina
   (D) Vancomicina
   (E) Cefazolina y ceftriaxona
4. Hace siete días una estudiante de medicina de 27 años de edad regresó de Centroamérica, donde había pasado el verano trabajando en una clínica para indigentes. Hace cuatro días la paciente presentó un exantema eritematoso parecido a una quemadura solar. También había tenido cefaleas, mialgias y cólicos abdominales con diarrea. Su presión arterial es 70/40 mmHg. La exploración ginecológica muestra que se encuentra cursando su periodo menstrual y tiene colocado un tampón; por lo demás, la exploración ginecológica es normal. Sus pruebas de función renal (nitrógeno de urea

sanguínea y creatinina) son anormales, lo que indica insuficiencia renal leve. Un frotis sanguíneo para el paludismo es negativo. ¿Es posible que su enfermedad sea causada por cuál de los siguientes?

(A) Una toxina que produce concentraciones muy elevadas de monofosfato de adenosina cíclico intracelular (cAMP)
(B) Una toxina que degrada esfingomielina
(C) Una toxina que se une al complejo de histocompatibilidad mayor clase II (MHC) de una célula presentadora de antígeno y la región Vβ de un linfocito T
(D) Una toxina de dos componentes que forma poros en los leucocitos e incrementa la permeabilidad a los cationes
(E) Una toxina que bloquea el factor de elongación 2 (EF2)

5. Durante un periodo de tres semanas, un total de cinco pacientes en la sala de recién nacidos del hospital presentó infecciones por *Staphylococcus aureus* y bacteriemia por este microorganismo. Todas las cepas aisladas tenían las mismas características morfológicas de la colonia y propiedades hemolíticas así como patrones de susceptibilidad a antimicrobianos idénticos, lo que indicaba que eran las mismas. (Los métodos moleculares que se utilizaron más tarde demostraron que las cepas eran idénticas.) ¿Qué es lo que debe hacerse ahora?

(A) Tratamiento profiláctico de todos los recién nacidos con vancomicina intravenosa
(B) Aislamiento protector de todos los recién nacidos
(C) Cierre de la sala de recién nacidos y envío de las mujeres embarazadas a otro hospital
(D) Contratar a nuevo personal para la sala de recién nacidos del hospital
(E) Realizar cultivo utilizando agar sal y manitol de la parte anterior de las narinas de los médicos, las enfermeras y otro personal que haya atendido a los lactantes infectados

6. Las toxinas exfoliativas, TSST-1, y las enterotoxinas son todas superantígenos. Los genes para estas toxinas

(A) Están presentes en todas las cepas de *Staphylococcus aureus*
(B) Tienen una distribución amplia en el cromosoma estafilocócico
(C) Se encuentran en el cromosoma estafilocócico (toxinas TSST-1 y exfoliativa) y en plásmidos (enterotoxinas)
(D) Se encuentran en el cromosoma estafilocócico en una isla de patogenicidad
(E) Están en los plásmidos

7. Un paciente de 16 años de edad sometido a un trasplante de médula ósea tiene un catéter central que fue colocado hace dos semanas. También tiene una sonda en las vías urinarias, la cual fue colocada hace dos semanas también. Presenta fiebre en tanto que sus cifras de leucocitos son muy bajas y antes de implantar el injerto. Se llevan a cabo tres hemocultivos y todos demuestran *Staphylococcus epidermidis.* ¿Cuál de las siguientes declaraciones es correcta?

(A) Los microorganismos de la especie *Staphylococcus epidermidis* posiblemente son susceptibles a la penicilina G
(B) *Staphylococcus epidermidis* posiblemente proviene de la superficie de la sonda en las vías urinarias
(C) *Staphylococcus epidermidis* posiblemente es resistente a la vancomicina
(D) Los microorganismos de la especie *Staphylococcus epidermidis* posiblemente provienen de una fuente cutánea
(E) Los microorganismos de la especie *Staphylococcus epidermidis* posiblemente se hallan en una biopelícula en la superficie del catéter venoso central

8. Un varón de 65 años de edad presenta un absceso en la parte posterior de su cuello. En el cultivo se detecta *Staphylococcus aureus.* Se evalúa la cepa y es positiva para el gen *mecA*, lo cual significa que

(A) La cepa es susceptible a vancomicina
(B) La cepa es resistente a vancomicina
(C) La cepa es susceptible a nafcilina
(D) La cepa es resistente a nafcilina
(E) La cepa es susceptible a clindamicina
(F) La cepa es resistente a clindamicina

9. La resistencia a antimicrobianos se ha convertido en un problema importante. ¿Cuál de los siguientes constituye un problema principal en todo el mundo?

(A) La resistencia de *Staphylococcus aureus* a la nafcilina
(B) La resistencia de *Streptococcus pneumoniae* a la penicilina
(C) La resistencia de *Neisseria gonorrhoeae* a la penicilina
(D) La resistencia de *Staphylococcus aureus* a la vancomicina
(E) La resistencia de *Escherichia coli* a la tobramicina

10. Un grupo de seis niños menores de ocho años de edad vive en un país semitropical. Todos los niños tienen varias lesiones cutáneas exudativas y encostradas de impétigo (piodermia). Las lesiones predominan en los brazos y la cara. ¿Cuál de los siguientes microorganismos es posiblemente la causa de las lesiones?

(A) *Escherichia coli*
(B) *Chlamydia trachomatis*
(C) *Staphylococcus aureus*
(D) *Streptococcus pneumoniae*
(E) *Bacillus anthracis*

11. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a la participación de la proteína A en la patogenia de las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* es correcta?

(A) Es la causa del exantema en el síndrome de choque tóxico
(B) Convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno
(C) Es una enterotoxina potente
(D) Es la causa directa de la lisis de neutrófilos
(E) Es una proteína de la superficie bacteriana que se une a la porción Fc de la IgG1

12. ¿Cuál de los siguientes microorganismos estafilocócicos produce coagulasa y se ha implicado en las infecciones que se presentan tras una mordedura de perro?

(A) *Staphylococcus intermedius*
(B) *Staphylococcus epidermidis*
(C) *Staphylococcus saprophyticus*
(D) *Staphylococcus hominis*
(E) *Staphylococcus hemolyticus*

13. Todas las siguientes aseveraciones en relación con la leucocidina de Panton-Valentine son correctas, *excepto:*

(A) Es una toxina de dos componentes
(B) Suele ser producida por cepas extrahospitalarias de MRSA
(C) Es un factor de virulencia importante
(D) Es idéntica a una de las enterotoxinas estafilocócicas
(E) Forma poros en las membranas de los leucocitos

14. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones describe mejor la función del regulador del gen accesorio en *Staphylococcus aureus*?

(A) Regula la producción de hemolisinas β
(B) Está sujeto a la influencia del oxígeno ambiental
(C) Controla la expresión preferente de las adhesinas de superficie
(D) Es importante en el control de la autólisis

15. Todas las siguientes son estrategias importantes para el control de la infección en la contención de la diseminación de MRSA en los hospitales, *excepto:*

(A) Higiene meticulosa de las manos
(B) Vigilancia sistemática de la colonización nasal en personas con alto riesgo
(C) Aislamiento de contacto para los pacientes que están colonizados o infectados por MRSA

(D) Profilaxis antimicrobiana sistemática en todos los pacientes hospitalizados por más de 48 horas
(E) Tratamiento aséptico de las lesiones cutáneas

Respuestas

1. D	5. E	9. D	13. D
2. E	6. D	10. C	14. C
3. A	7. E	11. E	15. D
4. C	8. D	12. A	

BIBLIOGRAFÍA

Bronner S et al: Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: Complexity and applications. FEMS Microbiol Rev 2004;28:183.

Novick RP, Schlievert P, Ruzin A: Pathogenicity and resistance islands of staphylococci. Microbes Infect 2001;3:585. [PMID: 11418332]

Que, YA et al: *Staphylococcus aureus* (including staphylococcal toxic shock). In *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone Elsevier, 2009.

Rivera J, Vannakambadi G, Hook M, Speziale P: Fibrinogen-binding proteins of Gram-positive bacteria. Thromb Haemost 2007;98:503.

Weems JJ Jr et al: Phase II, randomized, double-blind, multi-center study comparing the safety and pharmacokinetics of tefibazumab to placebo for treatment of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Antimicrob Agents Chemother 2006;50:2751.

Winn WC et al (editors): Gram-positive cocci, Part I: Staphylococci and related gram-positive cocci. In *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th ed. Winn WC Jr et al (editors). Lippincott Williams and Wilkins, 2006, p. 623.



C A P Í T U L O

14

Estreptococos

INTRODUCCIÓN

Los estreptococos son bacterias esféricas grampositivas que de manera característica forman pares o cadenas durante su multiplicación. Tienen una amplia distribución en la naturaleza. Algunos son miembros de la microflora normal de los seres humanos, otros están relacionados con enfermedades humanas importantes atribuibles en parte a la infección por estreptococos, y en parte a la sensibilización a ellos. Los estreptococos elaboran diversas sustancias y enzimas extracelulares.

Los estreptococos son un grupo extenso y heterogéneo de bacterias y ningún sistema es suficiente para clasificarlos. No obstante, es imprescindible comprender la clasificación para entender su importancia médica.

CLASIFICACIÓN DE LOS ESTREPTOCOCOS

La clasificación de los estreptococos en categorías principales se ha basado en una serie de observaciones durante muchos años: 1) morfología de la colonia y reacciones hemolíticas en agar sangre; 2) especificidad serológica de la sustancia específica de grupo de la pared celular y otros antígenos de la pared celular o capsulares; 3) reacciones bioquímicas y resistencia a factores físicos y químicos, y 4) características ecológicas. Asimismo, se ha utilizado la genética molecular para estudiar a los estreptococos. Las combinaciones de los métodos antes mencionados han permitido clasificar a los estreptococos con fines clínicos y epidemiológicos, pero a medida que ha evolucionado el conocimiento, se han introducido nuevos métodos, lo que ha dado como resultado que se hayan descrito varios sistemas de clasificación.

En algunos casos, se han utilizado diferentes nombres de especies para describir a los mismos microorganismos; en otros casos, algunos miembros de la misma especie se han incluido en otra especie o se han clasificado por separado. El género *Enterococcus*, por ejemplo, comprende ahora algunas especies previamente clasificadas como estreptococos del grupo D. La clasificación de los estreptococos descritos en los párrafos siguientes y resumidos en el cuadro 14-1 constituye un enfoque lógico.

A. Hemólisis

Muchos estreptococos pueden producir hemólisis de los eritrocitos *in vitro* en grados variables. La destrucción completa de los eritrocitos con el aclaramiento de la sangre alrededor del crecimiento bacteriano se denomina **hemólisis β**. La lisis incompleta de los eritrocitos con reducción de hemoglobina y la formación de pigmento verde se llama **hemólisis α**. Otros estreptococos son no hemolíticos (a veces denominada hemólisis γ [gamma]).

En el cuadro 14-1 se muestran los patrones de hemólisis de los estreptococos que tienen importancia médica en el ser humano. Se utiliza la clasificación de los patrones hemolíticos principalmente con los estreptococos y no con otras bacterias que producen enfermedad y que suelen producir diversas hemolisinas.

B. Sustancia específica de grupo (clasificación de Lancefield)

Este hidrato de carbono está contenido en la pared celular de muchos estreptococos y constituye la base del agrupamiento serológico en los **grupos de Lancefield A a H** y **K a U**. La especificidad serológica del hidrato de carbono específico de grupo está determinada por un aminoglúcido. En caso de estreptococos del grupo A, ésta es la ramnosa-*N*-acetilglucosamina; en el caso del grupo B, es un polisacárido de ramnosa-glucosamina; para el grupo C, es la ramnosa-*N*-acetilgalactosamina; para el grupo D, es el ácido teicoico de glicerol que contiene D-alanina y glucosa; y para el grupo F, es una glucopiranosil-*N*-acetilgalactosamina.

Se preparan extractos de antígeno específico de grupo para el agrupamiento de los estreptococos por diversos métodos: extracción del cultivo centrifugado tratado con ácido clorhídrico caliente, ácido nitroso o formamida; mediante lisis enzimática de células estreptocócicas (p. ej., con pepsina o tripsina); o mediante autoclave de suspensiones de células. Estos extractos contienen el carbohidrato de la sustancia específica de grupo que produce antisueros específicos de reacciones con la precipitina. Esto permite el ordenamiento de muchos estreptococos en los grupos A a H y K a U.

Por lo regular se realiza la tipificación sólo para los grupos A, B, C, F y G (cuadro 14-1), que causan enfermedad en el ser humano y para los cuales no hay reactivos que permitan la tipificación utilizando aglutinación simple o reacciones de color.

C. Polisacáridos capsulares

La especificidad antigénica de los polisacáridos capsulares se utiliza para clasificar *S. pneumoniae* en más de 90 tipos y para tipificar los estreptococos del grupo B (*S. agalactiae*).

CUADRO 14-1 Características de estreptococos de importancia médica

Nombre	Sustancia específica de grupo[a]	Hemólisis[b]	Hábitat	Criterios de laboratorio importantes	Enfermedades frecuentes e importantes
Streptococcus pyogenes	A	β	Faringe, piel	Colonias grandes (>0.5 mm), positividad en la prueba con PYR,[c] inhibido por bacitracina	Faringitis, impétigo, fiebre reumática, glomerulonefritis, choque tóxico
Streptococcus agalactiae	B	β	Aparato genital femenino, tubo digestivo bajo	Hidrólisis de hipurato, CAMP[d] positivo	Sepsis neonatal y meningitis, bacteriemia en adultos
Streptococcus dysgalactiae subespecies *equisimilis*; otros	C, G	β (infecciones humanas), α, ninguno	Faringe	Colonias grandes (>0.5 mm)	Faringitis, infecciones piógenas similares a estreptococos del grupo A
Enterococcus faecalis (y otros enterococos)	D	Ninguna, α	Colon	Cultivo en presencia de bilis, hidroliza esculina, desarrollo en NaCl al 6.5%, PYR positivo	Absceso abdominal, infección de las vías urinarias, endocarditis
Grupo de *Streptococcus bovis*	D	Ninguna	Colon, árbol biliar	Cultivo en presencia de bilis, hidroliza esculina, ningún desarrollo en NaCl al 6.5%, degrada almidón	Endocarditis, se aísla con frecuencia en hemocultivo en pacientes con cáncer de colon, enfermedades biliares
Grupo de *Streptococcus anginosus* (*S. anginosus, S. intermedius, S. constellatus*, grupo de *S. milleri*)	F (A, C, G) y no tipificable	α, β, ninguna	Faringe, colon, aparato genital femenino	Variantes de colonia pequeña (<0.5 mm) de especies hemolíticas β. Los microorganismos del grupo A son resistentes a la bacitracina y son PYR negativos. Tipos de fermentación de carbohiratos	Infecciones piógenas, incluidos abscesos cerebrales
Estreptococos viridans (muchas especies)	Por lo general no tipificado o no tipificable	α, ninguna	Boca, faringe, colon, aparato genital femenino	Resistente a optoquina. Colonias insolubles en bilis. Tipo de fermentación de carbohidratos	Caries dental (*S. mutans*), endocarditis, abscesos (con muchas otras especies bacterianas), algunas especies como *Streptococcus mitis*, tienen un alto grado de resistencia a la penicilina
Streptococcus pneumoniae	Ninguna	α	Nasofaringe	Susceptibilidad a la optoquina. Colonias solubles en bilis, positividad en la reacción tumefacción capsular	Neumonía, meningitis, endocarditis, otitis media y sinusitis
Peptostreptococcus (muchas especies) (véase cap. 21)	Ninguna	Ninguna, α	Boca, colon, aparato genital femenino	Anaerobios obligados	Abscesos (con otras múltiples especies de bacterias)

[a]Clasificación de Lancefield.

[b]Hemólisis observada en agar sangre de carnero al 5% después de la incubación durante la noche.

[c]Hidrólisis de L-pirrolidonil-2-naftilamida ("PYR").

[d]Prueba de Christie, Atkins, Munch-Peterson.

D. Reacciones bioquímicas

Las pruebas bioquímicas comprenden reacciones de fermentación de carbohidratos, pruebas para determinar la existencia de enzimas y pruebas de susceptibilidad o resistencia a determinados compuestos químicos. Las pruebas bioquímicas se utilizan muy a menudo para clasificar estreptococos después del desarrollo de la colonia y de observar las características hemolíticas. Se utilizan las pruebas bioquímicas para especies que por lo general no reaccionan con las preparaciones de anticuerpo frecuentemente utilizadas para las sustancias específicas de grupo, de los grupos A, B, C, F y G. Por ejemplo, los estreptococos viridans son hemolíticos α o no hemolíticos y no reaccionan con los anticuerpos que suelen utilizarse para la clasificación de Lancefield. Para determinar las especies de estreptococos viridans se necesita una serie de pruebas bioquímicas.

Muchas especies de estreptococos, incluidos *S. pyogenes* (grupo A), *S. agalactiae* (grupo B) y los enterococos (grupo D), se caracterizan por combinaciones de rasgos: características de desarrollo de la colonia, patrones de hemólisis en agar sangre (hemólisis α, hemólisis β o ausencia de hemólisis), composición antigénica de las sustancias de la pared celular específicas de grupo y reacciones bioquímicas. Los tipos de la especie *S. pneumoniae* (neumococos) se clasifican también según la composición antigénica de los polisacáridos capsulares. Los estreptococos viridans

pueden ser hemolíticos α o no hemolíticos, por lo general se determina su especie mediante reacciones bioquímicas. Véase el cuadro 14-1. Puesto que las reacciones bioquímicas son muy laboriosas y a menudo no son confiables, los laboratorios con recursos para pruebas moleculares, como la hibridación de ácido nucleico peptídico y la secuenciación génica, están remplazando a las pruebas fenotípicas con estos métodos cuando es necesaria la identificación de estreptococos viridans.

ESTREPTOCOCOS DE INTERÉS MÉDICO PARTICULAR

Los siguientes estreptococos y enterococos tienen importancia especial en medicina.

STREPTOCOCCUS PYOGENES

La mayor parte de los estreptococos que contienen el antígeno del grupo A es *S. pyogenes*. Es un prototipo de microorganismo patógeno humano. En este caso sirve para ilustrar las características generales de los estreptococos y las características específicas de la especie. *S. pyogenes* es el principal microorganismo patógeno humano que produce invasión local o sistémica y trastornos inmunitarios posestreptocócicos. *S. pyogenes* suele producir zonas grandes (de 1 cm de diámetro) de hemólisis β alrededor de las colonias mayores de 0.5 mm de diámetro. Son PYR positivos (hidrólisis de l-pirrolidonil-2-naftilamida) y suelen ser susceptibles a la bacitracina.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Los cocos individuales son esféricos u ovoides y están dispuestos en cadenas (fig. 14-1). Los cocos se dividen en un plano perpendicular al eje longitudinal de la cadena. Los miembros de la cadena a menudo tienen un aspecto diplocócico llamativo y esporádicamente se observan formas semejantes a un bastón. Las longitudes de las cadenas son muy variables y están condicionadas por factores ambientales. Los estreptococos son grampositivos; sin embargo, a medida que envejece un cultivo y mueren las bacterias, pierden su grampositividad y pueden tener un aspecto gramnegativo; en el caso de algunos estreptococos, esto puede ocurrir después de la incubación durante la noche.

Casi todas las cepas del grupo A (cuadro 14-1) producen cápsulas que constan de ácido hialurónico. Las cápsulas son más notables en los cultivos muy recientes. Impiden la fagocitosis. La cápsula de ácido hialurónico posiblemente tiene una participación más importante en la virulencia de lo que a menudo se aprecia y se cree que junto con la proteína M ha sido un factor importante en el resurgimiento de la fiebre reumática en Estados Unidos durante las décadas de 1980 y 1990. La cápsula se une a la proteína fijadora de ácido hialurónico, CD44, presente en las células epiteliales humanas. La fijación produce alteración de las uniones intercelulares y permite a los microorganismos mantenerse en el medio extracelular conforme penetran el epitelio (Stollerman GH y Dale JB). Las cápsulas de otros estreptococos (p. ej., *S. agalactiae* y *S. pneumoniae*) son diferentes. La pared celular de *S. pyogenes* contiene proteínas (antígenos M, T, R), hidratos de carbono (específicos de grupo) y peptidoglucanos. Las fimbrias de aspecto filiforme se proyectan a través de la cápsula de estreptococos del grupo A. Las fimbrias constan en parte de proteína M y están recubiertas con **ácido lipoteicoico**. Este último es importante en la adherencia de los estreptococos a las células epiteliales.

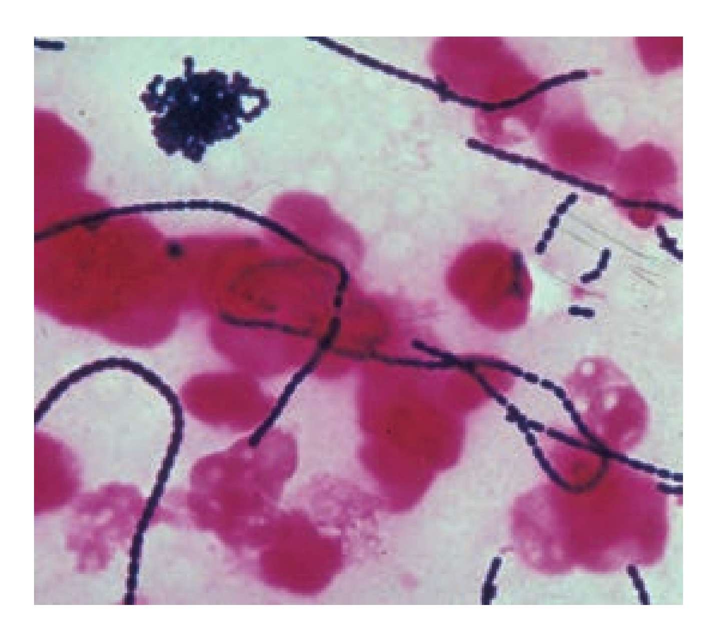


FIGURA 14-1 Estreptococos desarrollados en hemocultivo que muestran cocos grampositivos en cadena. Aumento del original × 1 000.



FIGURA 14-2 Estreptococos hemolíticos β del grupo A (*Streptococcus pyogenes*) después del cultivo durante la noche en una placa de 10 cm con agar sangre de carnero al 5%. Las colonias blancas pequeñas (0.5 a 1 mm de diámetro) están rodeadas por zonas difusas de hemólisis β de 7 a 10 mm de diámetro. (Cortesía de H. Reyes.)

B. Cultivo

La mayor parte de los estreptococos se desarrolla en medios sólidos como colonias discoides, por lo general de 1 a 2 mm de diámetro. *S. pyogenes* es hemolítico β (fig. 14-2). Otras especies tienen características hemolíticas variables.

C. Características de crecimiento

La energía se obtiene principalmente de la utilización de glucosa con ácido láctico como producto final. La proliferación de los estreptococos tiende a ser deficiente en medios sólidos o en caldo, a menos que estén enriquecidos con sangre o líquidos hísticos. Las necesidades nutricias varían ampliamente entre las diferentes especies. Los microorganismos patógenos humanos son más exigentes, y necesitan diversos factores de multiplicación. La multiplicación y la hemólisis se facilitan por la incubación en CO_2 al 10%. La mayor parte de los estreptococos hemolíticos patógenos se desarrolla mejor a una temperatura de 37°C. Casi todos los estreptococos son anaerobios facultativos y crecen en condiciones aerobias y anaerobias. Los peptoestreptococos son anaerobios obligados.

D. Variación

Las variantes de la misma cepa de estreptococo pueden mostrar diferentes formas de colonias. Esto es muy notable en las cepas de *S. pyogenes,* lo que origina colonias mate o brillantes. Las colonias mate constan de microorganismos que producen mucha proteína M y por lo general son virulentos. Los microorganismos *S. pyogenes* en las colonias brillantes tienden a producir escasa proteína M y a menudo no son virulentos.

Estructura antigénica

A. Proteína M

Esta sustancia es un factor de virulencia importante de *S. pyogenes* del grupo A. La proteína M aparece como proyecciones filiformes de la pared celular estreptocócica. Cuando está presente la proteína M, los estreptococos son virulentos y si no hay anticuerpos específicos tipo M, pueden resistir la fagocitosis a cargo de los leucocitos polimorfonucleares. *S. pyogenes* que carece de proteína M no es virulento. La inmunidad a la infección con estreptococos del grupo A está relacionada con la presencia de anticuerpos específicos contra la proteína M. Puesto que hay muchos, tal vez 150 tipos de proteína M, una persona puede tener infecciones repetidas por *S. pyogenes* del grupo A de diferentes tipos M. Tanto los estreptococos del grupo C como los del grupo G tienen genes homólogos con los genes de la proteína M del grupo A y se ha encontrado proteína M en estreptococos del grupo G.

La molécula de proteína M tiene una estructura enrollada en forma de bastón que separa dominios funcionales. La estructura permite un gran número de cambios de la secuencia y a la vez mantiene la función y los inmunodeterminantes de proteína M, por lo tanto, puede cambiar fácilmente. Hay dos clases estructurales importantes de proteína M, las clases I y II.

Al parecer la proteína M y tal vez otros antígenos de la pared celular estreptocócica tienen una participación importante en la patogenia de la fiebre reumática. Las membranas purificadas de la pared celular estreptocócica inducen anticuerpos que reaccionan con el sarcolema cardiaco del ser humano; no se han aclarado las características de los antígenos de reacción cruzada. Un componente de la pared celular de algunos tipos selectos de proteína M induce anticuerpos que reaccionan con el tejido muscular cardiaco. Los dominios antigénicos conservados en la proteína de clase IM reaccionan en forma cruzada con el músculo cardiaco humano y la proteína de clase IM puede ser un determinante de virulencia para la fiebre reumática.

B. Sustancia T

Este antígeno no tiene ninguna relación con la virulencia de los estreptococos. A diferencia de la proteína M, la sustancia T es acidolábil y termolábil. Se obtiene de estreptococos mediante digestión proteolítica, que rápidamente destruye a las proteínas M. La sustancia T permite la diferenciación de determinados tipos de estreptococos por aglutinación con antisueros específicos, en tanto que otros tipos comparten la misma sustancia T. Sin embargo, otro antígeno de superficie se ha denominado **proteína R**.

C. Nucleoproteínas

La extracción de estreptococos con álcalis débiles produce mezclas de proteínas y otras sustancias de escasa especificidad serológica, denominadas **sustancias P** que probablemente constituyen la mayor parte del cuerpo de la célula estreptocócica.

Toxinas y enzimas

Más de 20 productos extracelulares que son antigénicos son elaborados por *S. pyogenes,* incluidos los siguientes.

A. Estreptocinasa (fibrinolisina)

La estreptocinasa es producida por muchas cepas de estreptococos hemolíticos β del grupo A. Transforma el plasminógeno del plasma humano en plasmina, una enzima proteolítica activa que digiere fibrina y otras proteínas. Este proceso de digestión puede interferirse por inhibidores séricos inespecíficos y por un anticuerpo específico, la antiestreptocinasa. Se ha administrado estreptocinasa por vía intravenosa para tratar la embolia pulmonar y trombosis venosas y de la arteria coronaria.

B. Estreptodornasa

La estreptodornasa (desoxirribonucleasa estreptocócica) despolimeriza DNA. Se puede cuantificar la actividad enzimática por la disminución de la viscosidad de soluciones de DNA conocidas. Los exudados purulentos deben su viscosidad en gran parte a la desoxirribonucleoproteína. Se utilizan mezclas de estreptodornasa y estreptocinasa para el "desbridamiento enzimático". Ayudan a la licuefacción de exudados y facilitan la eliminación de pus y tejido necrótico; por consiguiente, los fármacos antimicrobianos penetran mejor y las superficies infectadas se restablecen con mayor rapidez. Se forma un anticuerpo contra DNAasa después de infecciones estreptocócicas (límite normal = 100 unidades), sobre todo después de infecciones cutáneas.

C. Hialuronidasa

La hialuronidasa degrada ácido hialurónico, un componente importante de la sustancia fundamental del tejido conjuntivo. En consecuencia, la hialuronidasa ayuda a diseminar los microorganismos infectantes (factor de diseminación). Las hialuronidasas son antigénicas y específicas para cada fuente bacteriana o hística. Tras la infección por microorganismos productores de hialuronidasa se encuentran anticuerpos específicos en el suero.

D. Exotoxinas pirógenas (toxina eritrógena)

Las exotoxinas pirógenas son elaboradas por *S. pyogenes.* Existen tres **exotoxinas pirógenas estreptocócicas: A**, **B** y **C**, las cuales son antigénicamente distintas. La exotoxina A se ha estudiado

más ampliamente. Es producida por estreptococos del grupo A que portan un fago lisógeno. Las exotoxinas pirógenas estreptocócicas se han relacionado con el **síndrome de choque tóxico estreptocócico** y la **fiebre escarlatina**. La mayor parte de las cepas de estreptococos del grupo A aisladas de pacientes con síndrome de choque tóxico estreptocócico produce exotoxina A pirógena estreptocócica o tienen el gen que la codifica; en cambio, sólo alrededor de 15% de los estreptococos del grupo A aislados de otros pacientes tienen el gen. La exotoxina C pirógena estreptocócica también puede contribuir al síndrome, mientras que no está clara la participación de la exotoxina B pirógena estreptocócica. Los estreptococos del grupo A relacionados con el síndrome de choque tóxico son principalmente proteína M tipos 1 y 3.

Las exotoxinas pirógenas funcionan como superantígenos, que estimulan los linfocitos T al unirse al complejo de histocompatibilidad mayor clase II en la región V_β del receptor del linfocito T. Los linfocitos T activados liberan citocinas que median el choque y la lesión de los tejidos. Los mecanismos de acción al parecer son similares a los que se presentan por la toxina-1 del síndrome tóxico estafilocócico y a las enterotoxinas estafilocócicas.

E. Difosfopiridina nucleotidasa

Esta enzima es excretada hacia el ambiente por algunos estreptococos. Esta sustancia puede estar relacionada con la capacidad del microorganismo para destruir los leucocitos. Las proteinasas y la amilasa son producidas por algunas cepas.

F. Hemolisinas

S. pyogenes hemolítico β del grupo A elabora dos hemolisinas (estreptolisinas). La **estreptolisina O** es una proteína (peso molecular 60 000) que tiene actividad hemolítica en el estado reducido (grupos SH disponibles) pero rápidamente es inactivada en presencia de oxígeno. La estreptolisina O es responsable de una parte de la hemólisis que se observa cuando el crecimiento se presenta en cortes profundos dentro del medio en las placas de agar sangre. Se combina cuantitativamente con la **antiestreptolisina O (ASO)**, un anticuerpo que aparece en el ser humano después de la infección por cualquier estreptococo que produzca estreptolisina O. Este anticuerpo bloquea la hemólisis provocada por la estreptolisina O. Este fenómeno constituye la base de una prueba cuantitativa para el anticuerpo. Un título sérico de ASO que supere las 160 a 200 unidades se considera anormalmente alto e indica infección reciente por *S. pyogenes* o concentraciones de anticuerpo persistentemente elevadas a consecuencia de una respuesta inmunitaria excesiva ante una exposición previa en una persona hipersensible. La **estreptolisina S** es la enzima que produce las zonas hemolíticas alrededor de las colonias estreptocócicas que crecen en la superficie de las placas de agar sangre. Es elaborada en presencia de suero, de ahí el nombre de estreptolisina S. No es antigénica pero puede ser inhibida por un inhibidor inespecífico que a menudo está presente en los sueros de seres humanos y animales y es independiente de la experiencia previa con estreptococos.

Patogenia y manifestaciones clínicas

Diversos procesos patológicos distintivos se relacionan con las infecciones por *S. pyogenes*. Las infecciones se pueden dividir en varias categorías.

A. Enfermedades atribuibles a la invasión por *S. pyogenes* y estreptococos hemolíticos β del grupo A

La puerta de entrada determina el cuadro clínico principal. Sin embargo, en cada caso hay una infección difusa que se propaga con rapidez y que afecta los tejidos y se extiende por los conductos linfáticos produciendo sólo una supuración local mínima. Desde los linfáticos, la infección puede extenderse hacia la circulación sanguínea.

1. Erisipela. Si la puerta de entrada es la piel, sobreviene erisipela, con edema engrosado masivo y un margen de infección que avanza rápidamente.

2. Celulitis. La celulitis estreptocócica es una infección aguda de diseminación rápida de la piel y los tejidos subcutáneos. Se presenta tras la infección relacionada con traumatismos leves, quemaduras, heridas o incisiones quirúrgicas. Se presenta dolor, hipersensibilidad, edema y eritema. La celulitis se distingue de la erisipela por dos manifestaciones clínicas: en la celulitis, la lesión no está elevada y no está bien definida la línea entre el tejido afectado y el sano.

3. Fascitis necrosante (gangrena estreptocócica). Ésta es una infección de los tejidos subcutáneos y la fascia. Hay necrosis considerable y de diseminación muy rápida de la piel y tejidos subcutáneos. Otras bacterias además de *S. pyogenes* también causan fascitis necrosante. Los estreptococos del grupo A que producen fascitis necrosante a veces también se han denominado “bacterias comedoras de carne”.

4. Fiebre puerperal. Los estreptococos entran en el útero después del parto, sobreviene fiebre puerperal, que es una septicemia que se origina en la herida infectada (endometritis).

5. Bacteriemia/septicemia. La infección de las heridas traumáticas o quirúrgicas por estreptococos produce bacteriemia, la cual rápidamente puede ser mortal. La bacteriemia por *S. pyogenes* también puede presentarse tras infecciones cutáneas, como celulitis y pocas veces faringitis.

B. Enfermedades atribuibles a la infección local por *S. pyogenes* y sus productos derivados

1. Faringitis estreptocócica. La infección más frecuente debida a *S. pyogenes* hemolítico β es la faringitis estreptocócica. *S. pyogenes* se adhiere al epitelio faríngeo por medio de fimbrias superficiales cubiertas de ácido lipoteicoico y también por medio de ácido hialurónico en las cepas encapsuladas. La fibronectina de glucoproteína (peso molecular de 440 000) en las células epiteliales probablemente funciona como ligando de ácido lipoteicoico. En los lactantes y en los niños pequeños, la faringitis ocurre como una rinofaringitis subaguda con una secreción serosa líquida y poca fiebre pero con una tendencia de la infección a extenderse hacia el oído medio y la apófisis mastoides. Los ganglios linfáticos cervicales suelen estar aumentados de tamaño. La enfermedad puede persistir durante semanas. En los niños mayores y en los adultos la enfermedad es más aguda y se caracteriza por rinofaringitis intensa, amigdalitis e hiperemia intensa y edema de las mucosas, con exudado purulento, adenomegalia cervical dolorosa y por lo general fiebre alta. Veinte por

ciento de las infecciones es asintomático. Puede presentarse un cuadro clínico similar con la mononucleosis infecciosa, la difteria, una infección gonocócica y la infección por adenovirus.

La infección de las vías respiratorias altas por *S. pyogenes* por lo general no afecta a los pulmones. Cuando se presenta neumonía, progresa rápido y es grave y lo más frecuente es que sea una secuela de infecciones virales, por ejemplo, influenza o sarampión, que al parecer intensifican considerablemente la susceptibilidad.

2. Piodermia estreptocócica. La infección local de las capas superficiales de la piel, sobre todo en los niños se denomina **impétigo**. Consta de vesículas superficiales que se rompen y de zonas erosionadas cuya superficie desollada está cubierta de pus y más tarde se encostra. Se disemina por continuidad y es muy contagiosa, sobre todo durante los climas húmedos calientes. Ocurre una infección más generalizada en la piel eccematosa o herida o en las quemaduras y puede avanzar a la celulitis. Las infecciones cutáneas por estreptococos del grupo A suelen ser atribuibles a los tipos M 49, 57 y 59 a 61 y pueden anteceder a la glomerulonefritis pero a menudo no originan fiebre reumática.

S. aureus puede provocar una infección que es idéntica desde el punto de vista clínico y a veces están presentes tanto *S. pyogenes* como *S. aureus.*

C. Infecciones invasivas por estreptococos del grupo A, síndrome de choque tóxico estreptocócico y fiebre escarlatina

Las infecciones invasivas y fulminantes por *S. pyogenes* con **síndrome de choque tóxico estreptocócico** se caracterizan por choque, bacteriemia, insuficiencia respiratoria y falla de múltiples órganos. Ocurre el deceso en casi 30% de los pacientes, las infecciones tienden a presentarse después de traumatismos leves en personas por lo demás sanas con múltiples variantes de infección de tejidos blandos. Éstas comprenden fascitis necrosante, miositis e infecciones en otros tejidos blandos; la bacteriemia ocurre con frecuencia. En algunos pacientes, sobre todo en aquellos infectados por estreptococos del grupo A de los tipos M 1 o 3, la enfermedad se manifiesta por infección focal de tejidos blandos que se acompaña de fiebre y de choque rápidamente progresivo con falla de múltiples órganos. Puede presentarse eritema y descamación. Los *S. pyogenes* tipos M 1 y 3 (y tipos 12 y 28) que elaboran la exotoxina pirógena A o B se relacionan con infecciones graves.

Las exotoxinas pirógenas A a C también producen **fiebre escarlatina** relacionada con faringitis por *S. pyogenes* o con infección cutánea o de tejidos blandos. La faringitis puede ser grave. El exantema aparece en el tronco después de 24 horas de evolución de la enfermedad y se disemina para afectar las extremidades. El síndrome de choque tóxico estreptocócico y fiebre escarlatina son enfermedades que se traslapan clínicamente.

D. Enfermedades posestreptocócicas (fiebre reumática y glomerulonefritis)

Después de una infección aguda por *S. pyogenes,* hay un periodo de latencia de una a cuatro semanas, después de lo cual a veces se presenta nefritis o fiebre reumática. El periodo de latencia indica que estas enfermedades posestreptocócicas no son atribuibles al efecto directo de la bacteria diseminada, más bien representan una respuesta de hipersensibilidad. La nefritis más a menudo va precedida de una infección de la piel; la fiebre reumática con más frecuencia va precedida de una infección del sistema respiratorio.

1. Glomerulonefritis aguda. A veces se presenta una a cuatro semanas después de una infección cutánea por *S. pyogenes* (piodermia, impétigo). Algunas cepas son muy nefritógenas, principalmente las de tipos M 2, 42, 49, 56, 57 y 60 (piel). Otros tipos M nefritógenos relacionados con infecciones faríngeas y glomerulonefritis son 1, 4, 12 y 25. Después de las infecciones cutáneas estreptocócicas fortuitas, la frecuencia de nefritis es menor de 0.5%.

Es posible que la glomerulonefritis se inicie por complejos de antígeno-anticuerpo que se depositan en la membrana basal glomerular. El antígeno más importante probablemente está en la membrana del protoplasto estreptocócico. En la nefritis aguda, hay sangre y proteína en orina, edema, hipertensión arterial y retención de nitrógeno de urea; las concentraciones de complemento en suero también son bajas. Pocos pacientes fallecen; algunos presentan glomerulonefritis crónica con insuficiencia renal al final y la mayoría se restablece por completo.

2. Fiebre reumática. Ésta es la secuela más grave de la infección por *S. pyogenes*, pues produce lesión del músculo y las válvulas del corazón. Determinadas cepas de estreptococos del grupo A contienen antígenos de la membrana celular que tienen reacción cruzada con antígenos de tejido cardiaco humano. El suero de pacientes con fiebre reumática contiene anticuerpos contra estos antígenos.

El inicio de la fiebre reumática suele ir precedido de infección por *S. pyogenes* una a cuatro semanas antes, aunque la infección puede ser leve y es posible que no se detecte. Sin embargo, en general, los pacientes con faringitis estreptocócicas más graves tienen una mayor posibilidad de presentar fiebre reumática. En la década de 1950, las infecciones estreptocócicas no tratadas se acompañaban de fiebre reumática hasta en 3% del personal militar y 0.3% de niños civiles. La fiebre reumática en la actualidad es relativamente escasa en Estados Unidos (<0.05% de las infecciones estreptocócicas), pero es más de 100 veces más frecuente en los países tropicales y es la causa más importante de cardiopatía en personas jóvenes que viven en países en vías de desarrollo.

Los signos y síntomas característicos de la fiebre reumática comprenden fiebre, ataque al estado general, poliartritis migratoria no purulenta y signos de inflamación de todas las capas del corazón (endocardio, miocardio y pericardio). Es característico que la carditis produzca engrosamiento y deformación de las válvulas y que ocasione granulomas perivasculares pequeños en el miocardio (cuerpos de Aschoff) que finalmente son remplazados por tejido cicatrizal. La velocidad de eritrosedimentación, las concentraciones séricas de transaminasas, los electrocardiogramas y otras pruebas se utilizan para valorar la actividad reumática.

La fiebre reumática tiene una notable tendencia a reactivarse por infecciones estreptocócicas recidivantes, en tanto que la nefritis no. El primer ataque de fiebre reumática por lo general produce sólo una leve lesión cardiaca, la que, no obstante, se incrementa con cada ataque subsiguiente. Por tanto, es importante proteger a estos pacientes de las infecciones recidivantes por *S. pyogenes* mediante la administración profiláctica de penicilina.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras que se obtienen dependen de las características de la infección estreptocócica. Se obtiene un exudado faríngeo, y pus o sangre para cultivo. Se obtiene suero para las determinaciones de anticuerpos.

B. Frotis

Los frotis de pus a menudo muestran cocos individuales o pares más que cadenas definidas. Los cocos a veces son gramnegativos, pues los microorganismos ya no son viables y han perdido su capacidad para retener el colorante azul (violeta cristal) y ser grampositivos. Si los frotis de pus muestran estreptococos pero los cultivos no logran desarrollar el microorganismo, se deben sospechar microorganismos anaerobios. Los frotis de exudados faríngeos pocas veces contribuyen al diagnóstico, pues siempre están presentes estreptococos viridans y tienen el mismo aspecto que los estreptococos del grupo A en los frotis teñidos.

C. Cultivo

Las muestras en las que se sospecha que hay estreptococos se cultivan en placas de agar sangre. Si se sospechan anaerobios, también se deben inocular medios anaerobios adecuados. La incubación en CO_2 al 10% a menudo acelera la hemólisis. Colocar el inóculo dentro de cortes profundos en el agar sangre tiene un efecto similar, pues el oxígeno no se difunde fácilmente a través del medio hasta los microorganismos que se encuentran en la profundidad, y es el oxígeno el que inactiva a la estreptolisina O.

Los hemocultivos desarrollarán estreptococos hemolíticos del grupo A (p. ej., en la septicemia) al cabo de horas o de algunos días. Determinados estreptococos hemolíticos α y enterococos pueden desarrollarse con lentitud de manera que los hemocultivos en los casos de endocarditis sospechada a veces no son positivos durante algunos días.

El grado y la clase de hemólisis (y el aspecto de la colonia) ayudan a ubicar a un microorganismo en un grupo definido. Se puede identificar *S. pyogenes* mediante pruebas rápidas específicas para la presencia del antígeno específico del grupo A y mediante la prueba de PYR. Los estreptococos que corresponden al grupo A se identifican de manera presuntiva por la inhibición del desarrollo por la bacitracina, pero esto sólo debe utilizarse cuando no se disponga de pruebas más definitivas.

D. Pruebas de detección de antígeno

Se dispone de varios equipos comerciales para la detección rápida de antígeno estreptocócico del grupo A a partir de exudados faríngeos. Estos equipos utilizan métodos enzimáticos o químicos para extraer el antígeno del frotis, luego utilizan pruebas de inmunoanálisis enzimático (EIA, *enzime immunoassay*) o de aglutinación para demostrar la presencia del antígeno. Las pruebas pueden concluirse minutos a horas después de la obtención de la muestra. Tienen una sensibilidad de 60 a 90%, lo que depende de la prevalencia de la enfermedad en la población y tienen una especificidad de 98 a 99% cuando se comparan con los métodos de cultivo.

E. Pruebas serológicas

Se puede calcular una elevación del título de anticuerpos contra muchos antígenos estreptocócicos del grupo A. Tales anticuerpos comprenden ASO sobre todo en caso de enfermedad respiratoria; anti-DNasa y anti hialuronidasa, sobre todo en las infecciones de la piel; antiestreptocinasa; anticuerpos anti-M específicos y otros más. De éstos, el que más ampliamente se utiliza es el título de anti-ASO.

Inmunidad

La resistencia contra las enfermedades estreptocócicas es específica del tipo M. Por consiguiente, un hospedador que se ha restablecido tras la infección por un estreptococo del grupo A de tipo M es relativamente inmune a la reinfección por el mismo tipo pero completamente susceptible a la infección por otro tipo M. Se pueden demostrar anticuerpos anti-M específicos en una prueba que aprovecha el hecho de que los estreptococos rápidamente son destruidos después de la fagocitosis. La proteína M interfiere en la fagocitosis, pero en presencia de anticuerpos específicos contra un tipo de proteína M, los estreptococos son destruidos por los leucocitos humanos.

El anticuerpo contra la estreptolisina O se presenta después de una infección; bloquea la hemólisis ejercida por la estreptolisina O pero no indica inmunidad. Los títulos altos (>250 unidades) indican infecciones recientes o repetidas y se encuentran más a menudo en personas reumáticas que en quienes tienen infecciones estreptocócicas sin complicaciones.

Tratamiento

Todos los microorganismos de la especie *S. pyogenes* son susceptibles a la penicilina G y la mayoría es susceptible a la eritromicina. Algunos son resistentes a las tetraciclinas. Los antimicrobianos no tienen ningún efecto sobre la glomerulonefritis y la fiebre reumática establecidas. Sin embargo, en las infecciones estreptocócicas agudas se debe hacer todo lo posible por erradicar con rapidez los estreptococos del paciente, eliminar el estímulo antigénico (antes del día 8) y, por tanto, prevenir la enfermedad posestreptocócica. Las dosis de penicilina o eritromicina que producen concentraciones eficaces en los tejidos durante 10 días suelen lograr esto. Los antimicrobianos también son muy útiles para prevenir la reinfección por estreptococos hemolíticos β del grupo A en los pacientes con fiebre reumática.

Epidemiología, prevención y control

Aunque los seres humanos pueden ser portadores asintomáticos de *S. pyogenes* en la nasofaringe o perineo, el microorganismo se debe considerar importante si se detecta mediante cultivo u otros medios. La fuente final de estreptococos del grupo A es una persona que alberga estos microorganismos. El individuo puede tener una infección clínica o asintomática o puede ser un portador que distribuya los estreptococos directamente a las demás personas a través de gotículas del sistema respiratorio o por la piel. Las secreciones nasales de una persona que alberga *S. pyogenes* son la fuente más peligrosa de diseminación de estos microorganismos.

Muchos otros estreptococos (estreptococos viridans, enterococos, etc.) son miembros de la microflora normal del cuerpo humano. Producen enfermedad sólo cuando se establecen en partes del cuerpo donde normalmente no ocurren (p. ej., válvulas cardiacas). Para prevenir tales accidentes, sobre todo en el curso de los procedimientos quirúrgicos realizados en los sistemas

respiratorio, digestivo y urinario que producen bacteriemia temporal, a menudo se administran en forma profiláctica antimicrobianos a las personas con anomalías conocidas de las válvulas cardiacas y a quienes tienen válvulas o articulaciones protésicas.

Los procedimientos de control se dirigen principalmente a la fuente humana:

1. Detección y tratamiento antimicrobiano inicial de infecciones respiratorias y cutáneas por estreptococos del grupo A. La erradicación rápida de estreptococos de infecciones iniciales evita de manera eficaz la presentación de la enfermedad posestreptocócica. Para esto es necesario el mantenimiento de las concentraciones adecuadas de penicilina en los tejidos durante 10 días (p. ej., penicilina G benzatínica administrada una vez por vía intramuscular). La eritromicina es un fármaco alternativo, aunque algunas cepas de *S. pyogenes* son resistentes.
2. Quimioprofilaxis antiestreptocócica en las personas que han padecido un ataque de fiebre reumática. Esto implica administrar una inyección de penicilina G benzatínica por vía intramuscular, cada tres a cuatro semanas, o penicilina o sulfonamida por vía oral diariamente. El primer ataque de fiebre reumática pocas veces produce lesión cardiaca importante; sin embargo, tales personas son muy susceptibles a las reinfecciones por estreptococos que desencadenan recaídas de actividad reumática y dan origen a la lesión cardiaca. La quimioprofilaxis en tales personas, sobre todo en niños, debe continuarse durante años. No se utiliza la quimioprofilaxis en la glomerulonefritis debido al pequeño número de tipos de estreptococos nefritógenos. Una excepción pueden ser los grupos de familias con una elevada tasa de nefritis posestreptocócica.
3. Erradicación de *S. pyogenes* de los portadores. Esto es muy importante cuando los portadores están en zonas como salas obstétricas, quirófanos, aulas o salas de recién nacidos. Lamentablemente, suele ser difícil erradicar estreptococos hemolíticos β de portadores permanentes y en ocasiones los individuos tienen que alejarse de zonas “sensibles” por algún tiempo.

STREPTOCOCCUS AGALACTIAE

Estos son los **estreptococos del grupo B** . Es característico que sean hemolíticos β y produzcan zonas de hemólisis que sólo son un poco mayores que las colonias (1 a 2 mm de diámetro). Los estreptococos de grupo B producen hidrólisis del hipurato de sodio y una respuesta positiva en la llamada prueba de CAMP (Christie, Atkins, Munch-Peterson).

Los estreptococos del grupo B son parte de la microflora vaginal normal y de la porción baja del tubo digestivo en 5 a 25% de las mujeres. La infección estreptocócica del grupo B durante el primer mes de vida puede presentarse como septicemia fulminante, meningitis o síndrome de dificultad respiratoria. La ampicilina intravenosa administrada a las madres, que son portadoras de estreptococos del grupo B y que están en trabajo de parto, evita la colonización de sus lactantes y la enfermedad por estreptococos del grupo B. Las infecciones por estreptococos del grupo B están aumentando en personas adultas no embarazadas. Dos poblaciones que están aumentando, es decir, los ancianos y los hospedadores inmunodeprimidos, son los que tienen más riesgo de enfermedad invasiva. Los factores predisponentes comprenden diabetes mellitus, cáncer, edad avanzada, cirrosis hepática, tratamiento con corticoesteroides, infección por VIH y otros estados de inmunodeficiencia. La bacteriemia, las infecciones de la piel y los tejidos blandos, las infecciones respiratorias y las infecciones genitourinarias en orden de frecuencia descendente constituyen las principales manifestaciones clínicas.

GRUPOS C Y G

Estos estreptococos a veces se presentan en la nasofaringe y pueden causar faringitis, sinusitis, bacteriemia o endocarditis. A menudo tienen el aspecto de *S. pyogenes* del grupo A en medio de agar sangre y son hemolíticos β. Se identifican por las reacciones con antisueros específicos para los grupos C o G. Estos estreptococos del grupo G tienen hemolisinas y pueden tener proteínas M análogas a las de *S. pyogenes* del grupo A.

ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO D

Los estreptococos del grupo D recientemente han experimentado cambios taxonómicos. Existen ocho especies en este grupo, muchas de las cuales no causan infecciones en el ser humano. El grupo de *Streptococcus bovis* tiene gran importancia para la enfermedad humana y se clasifica además en biotipos (clasificación antigua), que tienen importancia epidemiológica y en tiempos más recientes, en cuatro complejos de DNA. Las especies animales en el grupo bovis se han asignado a la especie *S. equinus* (complejo de DNA I). Las cepas de biotipo I (en complejo de DNA II) fermentan manitol y en la actualidad se designan como *Streptococcus gallolyticus* subespecie *gallolyticus*. Este microorganismo produce endocarditis humana y a menudo se relaciona epidemiológicamente con carcinoma del colon. *Streptococcus bovis* de biotipo II se divide en dos subtipos: biotipo II.1 (ahora llamado *Streptococcus infantarius* subespecie *coli*), que también produce endocarditis, y biotipo II.2 (ahora llamado *S. gallolyticus* subespecie *pasteurianus*), que produce no sólo endocarditis sino también bacteriemia e infecciones del sistema urinario. Las bacteriemias por el tipo II a menudo se relacionan con fuentes biliares y con menos frecuencia con endocarditis. Por último, el complejo de DNA IV tiene una especie, *S. alactolyticus*. Todos los estreptococos del grupo D son no hemolíticos y PYR negativos. Se desarrollan en presencia de bilis e hidrolizan esculina (positivos para bilis y esculina) pero no crecen en NaCl al 6.5%. Son parte de la microflora intestinal normal.

GRUPO DE *STREPTOCOCCUS ANGINOSUS*

Otros nombres de especies del grupo de *S. anginosus* son *S. constellatus* y *S. intermedius*. A veces se designan como el grupo de *S. milleri*. Estos estreptococos son parte de la microflora normal. Pueden ser hemolíticos β, α, o no hemolíticos. El grupo de *S. anginosus* comprende estreptococos hemolíticos β que forman colonias diminutas (<0.5 mm de diámetro) y reaccionan con antisueros de los grupos A, C o G y todos los estreptococos hemolíticos β del grupo F. Los que corresponden al grupo A son PYR negativos. *S. anginosus* es positivo en la prueba de Voges-Proskauer. Se pueden clasificar como *Streptococcus viridans*.

ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO N

Pocas veces se detectan en enfermedades humanas pero producen coagulación normal ("leche cortada") de la leche.

ESTREPTOCOCOS DE LOS GRUPOS E, F, G, H Y K A U

Estos estreptococos se presentan principalmente en animales. Una de las múltiples especies de estreptococos del grupo G, *S. canis*, puede causar infecciones cutáneas en los perros pero pocas veces infectan al ser humano; otras especies de estreptococos del grupo G infectan al ser humano.

ESTREPTOCOCOS VIRIDANS

Los estreptococos viridans comprenden *S. mitis, S. mutans, S. salivarius, S. sanguis* y otros. Suelen ser hemolíticos α pero en ocasiones no son hemolíticos. Su multiplicación no se inhibe por optoquina y las colonias no son solubles en bilis (desoxicolato). Los estreptococos viridans son los miembros más frecuentes de la microflora normal del aparato respiratorio alto y son importantes para la salud de las mucosas de este sistema. Pueden llegar a la circulación sanguínea como resultado de traumatismo y son una causa principal de endocarditis en las válvulas cardiacas anormales. Algunos estreptococos viridans (p. ej., *S. mutans*) sintetizan grandes polisacáridos como dextranos o levanos a partir de sacarosa y contribuyen en grado importante a la patogenia de la caries dental.

En el curso de la bacteriemia, los estreptococos viridans, los neumococos o los enterococos pueden establecerse en válvulas cardiacas normales o previamente deformadas, produciendo **endocarditis aguda**. La destrucción rápida de las válvulas a menudo desencadena insuficiencia cardiaca mortal en cuestión de días o semanas a menos que se pueda insertar una prótesis durante el tratamiento antimicrobiano.

La **endocarditis subaguda** a menudo afecta a las válvulas anormales (anomalías congénitas y lesiones reumáticas o ateroescleróticas). Aunque cualquier microorganismo que llega a la circulación sanguínea se puede establecer en lesiones trombóticas que se desarrollan en el endotelio lesionado a consecuencia de alteraciones circulatorias, lo más frecuente es que la endocarditis subaguda la originen miembros de la microflora normal del aparato respiratorio o del tubo digestivo que accidentalmente llegan a la sangre. Después de la extracción dental, por lo menos 30% de los pacientes tiene una bacteriemia por estreptococos viridans. Estos estreptococos, por lo general los miembros más prevalentes de la microflora respiratoria alta, también son la causa más frecuente de endocarditis bacteriana subaguda. Los estreptococos del grupo D (enterococos y *S. bovis*) también son causas frecuentes de endocarditis subaguda. Alrededor de 5 a 10% de los casos se deben a enterococos que se originan en el intestino o en las vías urinarias. La lesión tiene una evolución lenta y un determinado grado de cicatrización acompaña a la inflamación activa; las vegetaciones constan de fibrina, plaquetas, eritrocitos y bacterias adheridos a las valvas. La evolución clínica es gradual, pero la enfermedad siempre resulta mortal en los casos no tratados. El cuadro clínico característico comprende fiebre, anemia, debilidad, un soplo cardiaco, fenómenos embólicos, esplenomegalia y lesiones renales.

Los estreptococos y los enterococos hemolíticos α tienen una susceptibilidad variable a los antimicrobianos. Sobre todo en la endocarditis bacteriana, son útiles las pruebas de susceptibilidad a antibióticos para determinar cuáles fármacos se pueden utilizar en el tratamiento óptimo. Los aminoglucósidos a menudo aumentan la intensidad de la acción bactericida de la penicilina sobre los estreptococos, en particular en los enterococos.

ESTREPTOCOCOS NUTRICIONALMENTE VARIABLES

Los estreptococos nutricionalmente variables, antes denominados *S. defectives* y *S. adjacens* y especies adicionales, en la actualidad se clasifican en el género *Abiotrophia* y el género *Granulicatella.* También se han conocido como "estreptococos nutricionalmente deficientes" y "estreptococos dependientes de piridoxal". Necesitan piridoxal o cisteína para desarrollarse en agar sangre o multiplicarse como colonias satélite en torno a colonias de estafilococos y otras bacterias. La complementación sistemática del agar sangre con piridoxal permite el aislamiento de estos microorganismos. Suelen ser hemolíticos α pero es posible que no sean hemolíticos. Forman parte de la microflora normal y en ocasiones producen bacteriemia o endocarditis y se pueden detectar en abscesos cerebrales y en otras infecciones. Desde la perspectiva clínica, son muy parecidos a los estreptococos viridans.

PEPTOESTREPTOCOCOS

Estos estreptococos se desarrollan sólo en condiciones anaerobias o microaerofílicas y producen en forma variable hemolisinas. Son parte de la microflora normal de la boca, las vías respiratorias altas, el intestino y el aparato genital femenino. A menudo participan con muchas otras especies de bacterias en infecciones anaerobias mixtas (cap. 21). Estas infecciones pueden ocurrir en heridas, en la mama, en la endometritis puerperal, tras la perforación de una víscera abdominal, en el cerebro o en la supuración crónica del pulmón. El pus suele tener un olor fétido.

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

Los neumococos (*S. pneumoniae*) son diplococos grampositivos, a menudo de forma de lanceta o dispuestos en cadenas, poseen una cápsula de polisacárido que permite la tipificación con antisueros específicos. Los neumococos rápidamente experimentan lisis por compuestos con actividad en la superficie, lo cual probablemente elimina o inactiva a los inhibidores de las autolisinas de la pared celular. Los neumococos son residentes normales de las vías respiratorias altas de 5 a 40% de los seres humanos y pueden causar neumonía, sinusitis, otitis, bronquitis, bacteriemia, meningitis y otros procesos infecciosos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Los típicos diplococos grampositivos, en forma de lanceta (fig. 14-3) suelen detectarse en muestras de cultivos recientes.

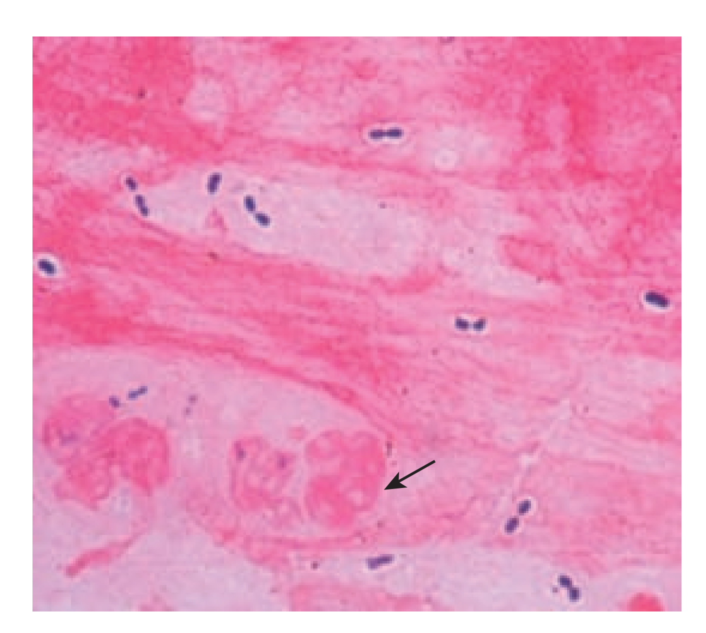


FIGURA 14-3 *Streptococcus pneumoniae* en esputo que se observan como diplococos grampositivos en forma de lanceta. Los núcleos en degeneración de las células polimorfonucleares son las formaciones rojas irregulares más oscuras de gran tamaño (*flecha*). Hay moco y residuos amorfos en el fondo. Aumento del original × 1 000.

En esputo o en pus, también se observan cocos individuales o cadenas. Con la edad, los microorganismos rápidamente se vuelven gramnegativos y tienden a experimentar lisis espontánea. La autólisis de neumococos se intensifica considerablemente por compuestos con actividad en la superficie. La lisis de neumococos ocurre en el término de algunos minutos cuando se añade bilis oxidada (10%) o desoxicolato de sodio (2%) a un caldo de cultivo o suspensión de microorganismos a un pH neutral. Los estreptococos viridans no experimentan lisis y por tanto fácilmente se distinguen de los neumococos. En medios sólidos la multiplicación de los neumococos se inhibe alrededor de un disco de optoquina; los estreptococos viridans no son inhibidos por la optoquina (fig. 14-4).

Otros puntos para la identificación son la virulencia casi uniforme para los ratones cuando se inyectan dentro del peritoneo y la "prueba de hinchazón de la cápsula" o reacción de tumefacción capsular (véase más adelante).

B. Cultivo

Los neumococos forman pequeñas colonias redondas, al principio en forma de cúpula y más tarde desarrollan una meseta central con un borde elevado. Los neumococos son hemolíticos α en agar sangre. Su multiplicación se intensifica mediante CO_2 al 5 a 10%.

C. Características de crecimiento

La mayor parte de la energía se obtiene de la fermentación de glucosa que se acompaña de la rápida producción de ácido láctico, lo cual limita la multiplicación. La neutralización de caldos de cultivo con álcali a intervalos produce un desarrollo masivo.

D. Variación

Las cepas de neumococos que producen grandes cantidades de cápsulas forman colonias mucoides de gran tamaño. La producción de cápsula no es esencial para el desarrollo en agar y, por tanto, tal producción se pierde después de un pequeño número de subcultivos. Sin embargo, los neumococos producirán de nuevo cápsula y tienen una mayor virulencia si se inyectan en ratones.

Estructura antigénica

A. Estructuras componentes

La pared celular del neumococo tiene peptidoglucano y ácido teicoico, al igual que otros estreptococos. El polisacárido capsular se une en forma covalente con el peptidoglucano y con el polisacárido de la pared celular. El polisacárido capsular es inmunitariamente distinto para cada uno de los más de 90 tipos.

B. Reacción de tumefacción capsular

Cuando los neumococos de determinado tipo se mezclan con suero antipolisacárido específico del mismo tipo (o con antisuero polivalente) en un portaobjetos, la cápsula se hincha notablemente y los microorganismos se aglutinan por el enlace cruzado de los anticuerpos (fig. 14-4C). Esta reacción es útil para la identificación rápida y para la tipificación de los microorganismos, ya sea en el esputo o en los cultivos. El antisuero polivalente, que contiene anticuerpos contra todos los tipos ("omnisuero") es un buen reactivo para la determinación microscópica rápida de la presencia o ausencia de neumococos en el esputo fresco.

Patogenia

A. Tipos de neumococos

En los adultos, los tipos 1 a 8 son causa de casi 75% de los casos de neumonía neumocócica y de más de la mitad de todos los decesos en la bacteriemia neumocócica. En los niños, los tipos 6, 14, 19 y 23 son causas frecuentes.

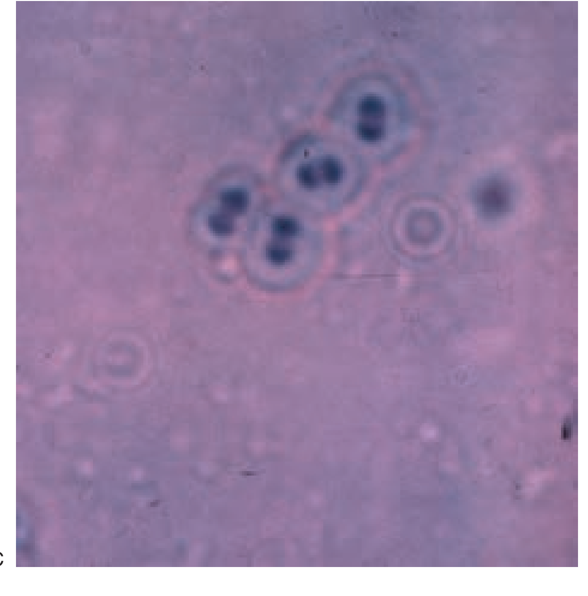
B. Producción de la enfermedad

Los neumococos producen la enfermedad por su capacidad para multiplicarse en los tejidos. No elaboran toxinas de importancia. La virulencia del microorganismo depende de su cápsula, lo cual evita o retarda la ingestión a cargo de los fagocitos. Un suero que contiene anticuerpos contra polisacárido específico protege contra la infección. Si tal suero se absorbe con el polisacárido específico, pierde su potencia protectora. Los animales o los seres humanos inmunizados con un determinado tipo de polisacárido neumocócico después se vuelven inmunes a ese tipo de neumococo y poseen anticuerpos precipitantes y opsonizantes para este tipo de polisacárido.

C. Pérdida de la resistencia natural

Dado que 40 a 70% de los seres humanos en algún momento es portador de neumococos virulentos, la mucosa respiratoria normal debe poseer una gran resistencia natural contra el





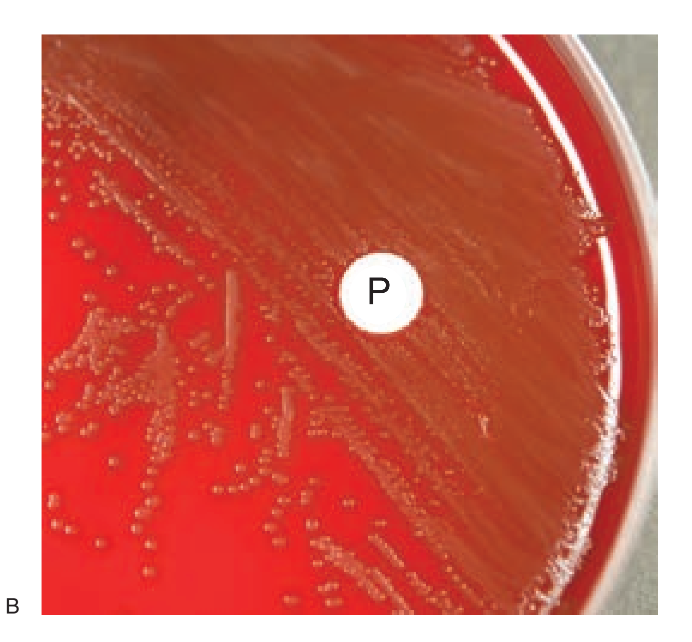


FIGURA 14-4 **A:** Inhibición de optoquina y solubilidad en bilis de *Streptococcus pneumoniae*. Los microorganismos *Streptococcus pneumoniae* fueron cultivados durante la noche en agar sangre de carnero al 5%. El disco de optoquina (clorhidrato de etilhidrocupreína) o P se colocó cuando se inoculó la placa. Los neumococos son hemolíticos α con una zona verde del agar alrededor de las colonias. La zona de inhibición alrededor del disco P es >14 mm, lo que indica que los microorganismos son neumococos y no estreptococos viridans. Se colocó una gota de solución de desoxicolato (bilis) en el desarrollo durante la noche justo a la derecha de la zona P del disco (*flecha*); después de unos 20 min a una temperatura ambiente las colonias de neumococos se solubilizaron (solubles en bilis). **B:** El desarrollo de estreptococos viridans al parecer es similar al de los neumococos, pero el de estreptococo viridans no es inhibido por la optoquina. **C:** Reacción de tumefacción capsular de *Streptococcus pneumoniae*: una pequeña cantidad del cultivo se mezcla con solución salina, antisueros contra el polisacárido de la cápsula y tinción de azul de metileno. Después de la incubación a una temperatura ambiente durante una hora, se observa la reacción en el microscopio. Los microorganismos están resaltados en azul claro. Una reacción positiva muestra aglutinados por el enlace cruzado de los anticuerpos y los neumococos. El efecto de halo alrededor de los neumococos es la tumefacción capsular evidente. Un control negativo no demostraría aglutinación o tumefacción de la cápsula. (Cortesía de H. Reyes.)

neumococo. Entre los factores que probablemente disminuyen esta resistencia y por tanto predisponen a la infección neumocócica están los siguientes:

1. Infecciones virales y de otro tipo del sistema respiratorio que lesionan las células de la superficie; acumulaciones anormales de moco (p. ej., alergia), que protegen a los neumococos de la fagocitosis; obstrucción bronquial (p. ej., atelectasia) y lesión del sistema respiratorio por irritantes que alteran su función mucociliar.
2. Intoxicación por alcohol o fármacos, que deprimen la actividad fagocítica, deprimen el reflejo tusígeno y facilitan la broncoaspiración de sustancias extrañas.
3. Dinámica circulatoria anormal (p. ej., congestión pulmonar, insuficiencia cardiaca).
4. Otros mecanismos. Por ejemplo, desnutrición, debilidad general, anemia drepanocítica, hipoesplenismo, nefrosis o deficiencia de complemento.

Anatomía patológica

La infección neumocócica produce un derrame de líquido de edema fibrinoso hacia los alvéolos, seguido de eritrocitos y leucocitos, lo cual produce la consolidación de porciones del pulmón. Muchos neumococos se encuentran en todo este exudado y pueden llegar a la circulación sanguínea a través del drenaje linfático de los pulmones. Las paredes alveolares se mantienen normalmente intactas durante la infección. Más tarde, los linfocitos mononucleares fagocitan en forma activa los residuos y esta fase líquida gradualmente se reabsorbe. Los neumococos son captados por los fagocitos y digeridos en el interior de la célula.

Manifestaciones clínicas

El inicio de la neumonía neumocócica suele ser súbito con fiebre, escalofríos y un dolor pleural intenso. El esputo es similar

al exudado alveolar y es característico que sea sanguinolento o de color herrumbroso. En las primeras etapas de la enfermedad, cuando la fiebre es alta, se presenta bacteriemia en 10 a 20% de los casos. Con el tratamiento antimicrobiano, la enfermedad suele terminar rápidamente; si se administran fármacos en las primeras etapas, se interrumpe el desarrollo de la consolidación.

La neumonía neumocócica debe diferenciarse del infarto pulmonar, atelectasia, neoplasias, insuficiencia cardiaca congestiva y neumonía causada por muchas otras bacterias. El empiema (pus en el espacio pleural) es una complicación notable y requiere aspiración y drenaje.

Desde el aparato respiratorio, los neumococos pueden llegar a otros lugares. Los senos paranasales y el oído medio son los que resultan más afectados. La infección a veces se extiende desde la apófisis mastoides hasta las meninges. La bacteriemia por neumonía se manifiesta por una tríada de complicaciones graves: meningitis, endocarditis y artritis séptica. Con el empleo inicial de quimioterapia, la endocarditis neumocócica aguda y la artritis se han vuelto poco frecuentes.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Se obtiene sangre para cultivo; líquido cefalorraquídeo y esputo para demostrar neumococos mediante frotis y cultivo. Las pruebas de anticuerpo en suero no son prácticas. Se debe analizar el esputo de diversas maneras.

A. Frotis teñidos

Una película de esputo de color rojo herrumbroso en la tinción de Gram muestra microorganismos característicos, muchos neutrófilos polimorfonucleares y muchos eritrocitos.

B. Pruebas de hinchazón de la cápsula

El esputo emulsificado fresco mezclado con antisuero produce hinchazón de la cápsula (la reacción de tumefacción capsular) para la identificación de los neumococos.

C. Cultivo

El cultivo se lleva a cabo con el esputo en agar sangre y se incuba en CO_2 o una vasija con vela. También se toma un hemocultivo.

Inmunidad

La inmunidad a la infección por neumococos es específica y depende tanto de los anticuerpos contra polisacárido capsular como de la función fagocítica intacta. Las vacunas pueden activar la producción de anticuerpos a polisacáridos capsulares (véase más adelante).

Tratamiento

Puesto que los neumococos son sensibles a muchos antimicrobianos, el tratamiento inicial por lo general logra el restablecimiento rápido y la respuesta de anticuerpos al parecer tiene una participación muy reducida. La penicilina G es el fármaco de elección, pero en Estados Unidos 15% de los neumococos es resistente a la penicilina (MIC ≥2 μg/ml) y casi 18% es moderadamente resistente (MIC 0.1 a 1 μg/ml). La penicilina G en dosis altas con MIC de 0.1 a 2 μg/ml al parecer es eficaz en el tratamiento de la neumonía causada por neumococos pero no sería eficaz para tratar la meningitis originada por las mismas cepas. Algunas cepas resistentes a la penicilina son resistentes a la cefotaxima. También se presenta resistencia a la tetraciclina y a la eritromicina. Los neumococos se mantienen susceptibles a la vancomicina.

Epidemiología, prevención y control

La neumonía neumocócica constituye casi 60% de todas las neumonías bacterianas. En el desarrollo de la enfermedad, los factores predisponentes (véase antes) son más importantes que la exposición al microorganismo infeccioso y el portador sano es más importante para diseminar los neumococos que el paciente enfermo.

Es posible inmunizar a las personas con polisacáridos específicos. Estas vacunas probablemente confieren una protección de 90% contra la neumonía bacteriémica. En Estados Unidos está autorizada una vacuna de polisacárido que contiene 23 tipos. Esta vacuna es apropiada en personas ancianas, debilitadas o inmunodeficientes. Una vacuna conjugada neumocócica contiene polisacáridos capsulares conjugados con la proteína CRM_{197} de la difteria. Esta vacuna heptavalente se recomienda en todos los niños de dos a 23 meses de edad para tratar de prevenir infecciones invasivas en algunos niños de 24 a 59 meses.

ENTEROCOCOS

Los enterococos tienen la sustancia específica del grupo D y previamente se clasificaban como estreptococos del grupo D. Puesto que el antígeno específico de la pared celular del grupo D es un ácido teicoico, no es un buen marcador antigénico; los enterococos suelen identificarse por otras características además de la reacción inmunitaria con antisueros específicos para el grupo. Son parte de la microflora intestinal normal. Por lo general no son hemolíticos pero a veces son hemolíticos α. Los enterococos son PYR positivos. Crecen en la presencia de bilis e hidrolizan la esculina (positividad para esculina biliar). Crecen en cloruro de sodio al 6.5%. Se desarrollan bien a temperaturas entre 10 y 45°C en tanto que los estreptococos por lo general se desarrollan a un intervalo de temperatura mucho más estrecho. Son más resistentes a la penicilina G que los estreptococos y pocas cepas tienen plásmidos que codifican la síntesis de lactamasa β. Muchas cepas son resistentes a la vancomicina.

Existen por lo menos 12 especies de enterococos. *Enterococcus faecalis* es el más frecuente y causa 85 a 90% de las infecciones enterocócicas, en tanto que *Enterococcus faecium* produce 5 a 10%. Los enterococos figuran entre las causas más frecuentes de infecciones intrahospitalarias, sobre todo en las unidades de cuidados intensivos y son seleccionados por el tratamiento con cefalosporinas y otros antibióticos a los cuales son resistentes. Los enterococos se transmiten de un paciente a otro principalmente en las manos del personal hospitalario, algunos de los cuales son portadores de enterococos en el tubo digestivo. Los enterococos a veces se transmiten en dispositivos

médicos. En los pacientes, los lugares de infección más frecuentes son el sistema urinario, las heridas, el sistema biliar y la sangre. Los enterococos pueden causar meningitis y bacteriemia en los recién nacidos. En los adultos, los enterococos pueden causar endocarditis. Sin embargo, en las infecciones intraabdominales, de heridas, urinarias y otras más, los enterococos suelen desarrollarse junto con otras especies de bacterias y es difícil definir el papel patógeno de los enterococos.

Resistencia a antibióticos

Un problema importante con los enterococos es que pueden ser muy resistentes a los antibióticos. *E. faecium* suele ser mucho más resistente a los antibióticos que *E. faecalis*.

A. Resistencia intrínseca

Los enterococos son intrínsecamente resistentes a las cefalosporinas, a las penicilinas resistentes a la penicilinasa y a los monobactámicos. Tienen una resistencia leve intrínseca a muchos aminoglucósidos, tienen una susceptibilidad intermedia o resistencia a las fluoroquinolonas y son menos susceptibles que los estreptococos (10 a 1 000 veces) a la penicilina y a la ampicilina. Los enterococos son inhibidos por los lactámicos β (p. ej., la ampicilina) pero en general no son destruidos por ellos.

B. Resistencia a los aminoglucósidos

El tratamiento con combinaciones de un antibiótico con actividad en la pared celular (una penicilina o vancomicina) más un aminoglucósido (estreptomicina o gentamicina) es esencial para las infecciones enterocócicas graves como la endocarditis. Aunque los enterococos tienen una resistencia leve intrínseca a los aminoglucósidos (MIC <500 μg/ml), tienen una susceptibilidad sinérgica cuando se tratan con un antibiótico que tiene actividad en la pared celular más un aminoglucósido. Sin embargo, algunos enterococos tienen resistencia intensa a los aminoglucósidos (MIC >500 μg/ml) y no son susceptibles a la sinergia. Esta resistencia de alto grado a los aminoglucósidos se debe a enzimas que modifican los aminoglucósidos enterocócicos (cuadro 14-2). Los genes que codifican la mayor parte de estas enzimas suelen hallarse en plásmidos conjugados o transposones. Las enzimas tienen diferente actividad contra los aminoglucósidos. La resistencia a la gentamicina pronostica la resistencia a otros aminoglucósidos, excepto estreptomicina. (La susceptibilidad a la gentamicina no pronostica la susceptibilidad a otros aminoglucósidos.) La resistencia a la estreptomicina no pronostica la resistencia a otros aminoglucósidos. El resultado es que sólo la estreptomicina o la gentamicina (o ambas o ninguna) tienen probabilidad de mostrar actividad sinérgica con un antibiótico que tenga actividad sobre la pared celular de los enterococos. Los enterococos obtenidos de infecciones graves deben someterse a pruebas de susceptibilidad para determinar la resistencia de alto grado (MIC >500 μg/ml) a la gentamicina y a la estreptomicina para pronosticar la eficacia terapéutica.

C. Resistencia a la vancomicina

El glucopéptido vancomicina es el principal fármaco alternativo a una penicilina (más un aminoglucósido) para tratar las infecciones enterocócicas. En Estados Unidos, los enterococos que son resistentes a la vancomicina han aumentado en frecuencia. Estos enterococos no son sinérgicamente susceptibles a la vancomicina más un aminoglucósido. La resistencia a la vancomicina ha sido muy frecuente en el caso de *E. faecium*, pero también ocurre en cepas de *E. faecalis* resistentes a la vancomicina.

Existen múltiples **fenotipos de resistencia a la vancomicina**. El fenotipo VanA se manifiesta por una gran resistencia inducible a la vancomicina y a la teicoplanina. Los fenotipos VanB son induciblemente resistentes a la vancomicina pero son susceptibles a la teicoplanina. Las cepas VanC tienen una resistencia intermedia a moderada a la vancomicina. VanC es constitutivo en las especies aisladas con menos frecuencia, *Enterococcus gallinarum* (VanC-1) y *Enterococcus casseliflavus/Enterococcus flavescens* (VanC-2/VanC-3). El fenotipo VanD se manifiesta por resistencia moderada a la vancomicina y resistencia leve o susceptibilidad a la teicoplanina. El fenotipo VanE es moderadamente resistente a la vancomicina y susceptible a la teicoplanina.

CUADRO 14-2 Enzimas modificadoras de aminoglucósido enterocócico que eliminan la sinergia de aminoglucósido-penicilina

Gen	Tipo de enzima	Estreptomicina	Gentamicina	Tobramicina	Amikacina
Aac′ (6)-*le-aph* (2″)-*la*	Bifuncional	S	R	R	R
Aph(2″)-*lb*	Fosfonotransferasa	S	R	R	S
Aph(2″)-*lc*	Fosfonotransferasa	S	R	R	S
Aph(2″)-*ld*	Fosfonotransferasa	S	R	R	S
Aac(6′)-*li*	6′-acetiltransferasa	S	S	R	S
Aph(3′)-*IIIa*	Fosfonotransferasa	S	S	S	R
Ant(3″)-*la*	Nucleotidiltransferasa	R	S	S	S
Ant(4′)-*la*	Nucleotidiltransferasa	S	S	R	R
Ant(6′)-*la*	Nucleotidiltransferasa	R	S	S	S

Reimpreso con autorización de Chow JW. Aminoglycoside resistance in enterococci. Clin Infect Dis 2000;31:586.

La teicoplanina es un glucopéptido que tiene muchas semejanzas con la vancomicina. Se comercializa en Europa pero no en Estados Unidos. Tiene importancia en la investigación de la resistencia de los enterococos a la vancomicina.

La vancomicina y la teicoplanina interfieren en la síntesis de la pared celular en bacterias grampositivas al interactuar con el grupo D-alanil-D-alanina (D-Ala-D-Ala) de las cadenas pentapeptídicas de precursores de peptidoglucano. El determinante de la resistencia a la vancomicina mejor estudiado es el operón VanA. Es un sistema de genes empacados en un plásmido autotransferible que contiene un transposón íntimamente relacionado con Tn*1546* (fig. 14-5). Hay dos marcos de lectura abiertos que codifican la síntesis de transposasa y resolvasa; los siete genes restantes codifican la resistencia a la vancomicina y las proteínas accesorias. Los genes *vanR* y *vanS* son sistemas reguladores de dos componentes sensibles a la presencia de vancomicina o teicoplanina en el medio ambiente. Se necesitan los genes *vanH, vanA* y *vanX* para la resistencia a la vancomicina. *vanH* y *vanA* codifican la síntesis de proteínas que generan la producción del depsipéptido (D-Ala-D-lactato) más que el péptido normal (D-Ala-D-Ala). El depsipéptido, cuando se une al UDP-muramil-triopéptido, forma un precursor pentapeptídico al cual no se unirán la vancomicina y la teicoplanina. *vanX* codifica una dipeptidasa que agota el D-Ala-D-Ala dipéptido normal que se encuentra en el medio ambiente. *vanY* y *vanZ* no son esenciales para la resistencia a la vancomicina. *vanY* codifica una carboxipeptidasa que desdobla la D-Ala terminal del pentapéptido, agotando cualquier pentapéptido funcional en el medio ambiente que se pudiera haber sintetizado por el proceso normal de construcción de la pared celular. No se ha aclarado la función de *vanZ*.

Al igual que *vanA, vanB* y *vanD* codifican la síntesis de D-Ala-D-Lac, *vanC* y *vanE* codifican la síntesis de D-Ala-D-Ser.

D. Producción de lactamasa β y resistencia a los lactámicos β

Se ha aislado *E. faecalis* productor de lactamasa β de muestras obtenidas de pacientes en Estados Unidos y otros países. Hay una gran variación geográfica. Las cepas del noreste y el sur de Estados Unidos al parecer se derivan de la diseminación de una sola cepa, lo que indica que se propagará a otras zonas geográficas. El gen que codifica la lactamasa β enterocócica es el mismo que se encuentra en *Staphylococcus aureus.* El gen se expresa constitutivamente en enterococos y es inducible en los estafilococos. Puesto que los enterococos pueden producir pequeñas cantidades de la enzima, al parecer son susceptibles a la penicilina y a la ampicilina mediante las pruebas de susceptibilidad sistemáticas. La lactamasa β se puede detectar utilizando un inóculo alto y la prueba de la cefalosporina cromógena o mediante otros métodos. La resistencia de alto grado a la gentamicina a menudo acompaña a la producción de lactamasa β. Los genes que codifican estas dos propiedades residen en plásmidos conjugativos y pueden transferirse de una cepa de enterococo a otra. Las infecciones provocadas por enterococos productores de lactamasa β pueden tratarse con una combinación de penicilina e inhibidores de la lactamasa β o vancomicina (y estreptomicina), cuando se ha demostrado la susceptibilidad *in vitro*.

E. Resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol

Los enterococos a menudo muestran susceptibilidad a trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMZ) en las pruebas *in vitro,* pero los fármacos no son eficaces para tratar las infecciones. Esta discrepancia se debe a que los enterococos pueden utilizar folatos exógenos disponibles *in vivo* y, por tanto, evaden la inhibición provocada por los fármacos.

OTROS COCOS GRAMPOSITIVOS CATALASA NEGATIVOS

Existen muchos cocos grampositivos no estreptocócicos o cocobacilos que a veces producen enfermedad (cuadro 14-3). Estos microorganismos tienen muchas características de multiplicación y morfológicas parecidas a los estreptococos viridans. Pueden ser hemolíticos α o no hemolíticos. La mayor parte de ellos es catalasa negativo, y otros pueden ser débiles catalasa positivos. Pediococcus y leuconostoc son los géneros cuyos miembros son **resistentes a la vancomicina** . Los lactobacilos son anaerobios que pueden ser aerotolerantes y hemolíticos α, formando a veces formas cocobacilares similares a los estreptococos viridans. La mayor parte de los **lactobacilos** (80 a 90%) son resistentes a la vancomicina. Otros microorganismos que a veces producen enfermedad y deben diferenciarse de los estreptococos y los enterococos son *Lactococcus, Aerococcus* y *Gemella,* géneros que con mucha frecuencia son **susceptibles a la vancomicina** . *Rothia mucilaginosus* se consideraba previamente un estafilococo, pero es catalasa negativo; las colonias muestran una adherencia distinta al agar.

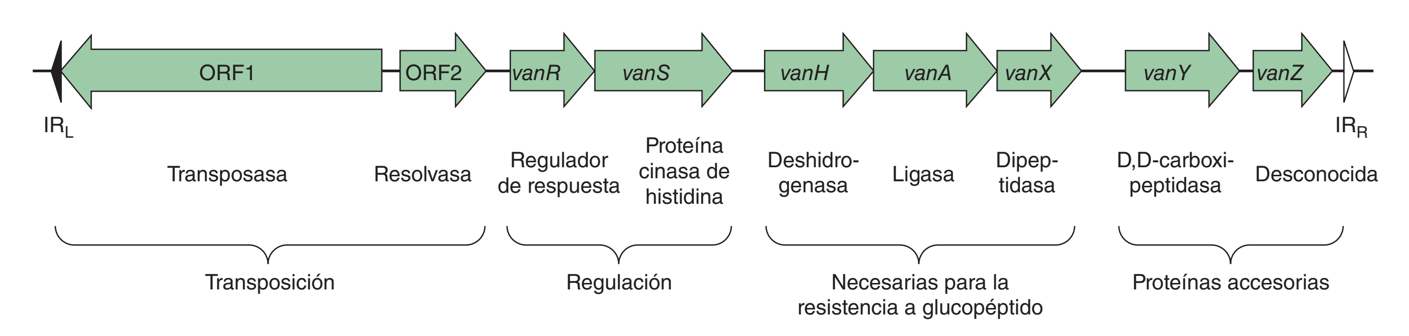


FIGURA 14-5 Mapa esquemático de la transposición Tn*1546* de *Enterococcus faecium* que codifica la resistencia a la vancomicina. IR_L e IR_R indican las repeticiones del transposón invertidas a la izquierda y a la derecha, respectivamente. (Adaptada y reproducida con autorización de Arthur M, Courvalin P: Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. Antimicrobs Agent Chemother 1993;37:1563.)

CUADRO 14-3 Cocos y cocobacilos grampositivos no estreptocócicos catalasa negativos que se detectan con más frecuencia

Género[a]	Catalasa	Tinción de Gram	Susceptibilidad a la vancomicina	Comentario
Abiotrophia[b] (estreptococo nutricionalmente variable)	Negativo	Cocos en pares, cadenas cortas	Susceptible	Microflora normal de la cavidad oral; se aísla en casos de endocarditis
Aerococcus	Negativo a positivo débil	Cocos en tétradas y racimos	Susceptible	En ocasiones se aíslan microorganismos ambientales en sangre, orina o zonas estériles
Gemella	Negativo	Cocos en pares, tétradas, racimos y cadenas cortas	Susceptible	Decolora fácilmente y puede tener el aspecto de gramnegativo, se desarrolla con lentitud (48 h); parte de la microflora humana normal; a veces se aísla de la sangre y de zonas estériles
Granulicatella[b] (estreptococo nutricionalmente variable)	Negativo	Cocos en cadenas, racimos	Susceptible	Microflora normal de la cavidad oral; se aísla de casos de endocarditis
Leuconostoc	Negativo	Cocos en pares y cadenas; cocobacilos, bastones	Resistente	Microorganismos ambientales; tienen aspecto de enterococos en agar sangre; se aísla de una gran variedad de infecciones
Pediococcus	Negativo	Cocos en pares, tétradas y racimos	Resistente	Presente en productos alimenticios y heces humanas; a veces se aísla de la sangre y de abscesos
Lactobacillus	Negativo	Cocobacilos, bastones en pares y cadenas	Resistente (90%)	Anaerobios aerotolerantes por lo general se clasifican como bacilos, microflora vaginal normal; a veces se detecta en infecciones profundas

[a]Otros géneros en los cuales son esporádicas o infrecuentes las cepas provenientes de seres humanos: *Alloiococcus*, *Facklamia*, *Globicatella*, *Helcococcus*, *Lactococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*.

[b]Necesita piridoxal para desarrollarse.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un varón de 48 años de edad ingresa al hospital a causa de estupor. Está descuidado y es indigente, vive en un campamento con otras personas necesitadas que llamaron a las autoridades cuando no lo pudieron despertar con facilidad. El paciente bebe mucho licor y bebió en exceso dos noches antes. Su temperatura es de 38.5°C y su presión arterial es de 125/80 mmHg. Gime cuando se intenta despertarlo. Tiene signos de Kernig y Brudzinski positivos, lo que indica irritación meníngea. En la exploración física y las radiografías torácicas se observan signos de consolidación del lóbulo pulmonar inferior izquierdo. Un aspirado endotraqueal produce un esputo de color herrumbroso. El análisis de un frotis del esputo teñido por Gram muestra numerosos polimorfonucleares y numerosos diplococos grampositivos en forma de lanceta. En la punción lumbar, el líquido cefalorraquídeo es turbio y tiene una cifra de leucocitos de 570/μl con 95% de polimorfonucleares. La tinción de Gram muestra múltiples diplococos grampositivos. Con base en esta información, el posible diagnóstico es
   (A) Neumonía y meningitis por *Staphylococcus aureus*
   (B) Neumonía y meningitis por *Streptococcus pyogenes*
   (C) Neumonía y meningitis por *Streptococcus pneumoniae*
   (D) Neumonía y meningitis por *Enterococcus faecalis*
   (E) Neumonía y meningitis por *Neisseria meningitidis*
2. El paciente de la pregunta 1 comenzó con antibioticoterapia con actividad contra múltiples microorganismos posibles. Después el cultivo del esputo y del líquido cefalorraquídeo presentó diplococos grampositivos con una concentración mínima inhibidora (MIC) para la penicilina G de >2 μg/ml. El fármaco de elección en este paciente hasta que se puedan realizar pruebas de susceptibilidad es
   (A) Penicilina G
   (B) Nafcilina
   (C) Trimetoprim-sulfametoxazol
   (D) Gentamicina
   (E) Vancomicina
3. Esta infección (pregunta 1) podría haberse evitado mediante
   (A) Penicilina benzatínica intramuscular profiláctica cada tres semanas
   (B) Vacuna de polisacárido capsular 23-valente
   (C) Vacuna contra serogrupos A, C, Y, así como polisacárido capsular W135
   (D) Vacuna de polisacárido capsular con polirribosilrribitol ligado en forma covalente a una proteína
   (E) Penicilina V oral diariamente
4. ¿La patogenia del microorganismo que produjo la infección (pregunta 1) incluye cuál de las siguientes?
   (A) Invasión de las células que revisten los alvéolos y entrada en la circulación de las vénulas pulmonares
   (B) Resistencia a la fagocitosis mediada por proteína M
   (C) Migración a los ganglios linfáticos mediastínicos donde ocurre la hemorragia

(D) Después de la fagocitosis, el microorganismo produce lisis de la vacuola fagocítica y es liberado cuando la célula fagocítica entra en la circulación
(E) Inhibición de la fagocitosis por una cápsula de polisacárido

5. Se recomienda una vacuna conjugada de proteína de polisacárido capsular heptavalente para el microorganismo patógeno de la pregunta 1
(A) Para personas de 18 años de edad y algunos adultos
(B) Sólo tras el contacto con un paciente con una enfermedad causada por el microorganismo
(C) En niños de 2 a 23 meses de edad y en algunos niños de hasta los 59 meses
(D) En niños de 24 a 72 meses
(E) En todos los grupos de edad mayores de dos meses de edad

6. Un niño de ocho años presenta una faringitis grave. En la exploración física se observa un exudado blanco grisáceo en las amígdalas y la faringe. El diagnóstico diferencial comprende una infección por estreptococos del grupo A, infección por virus de Epstein-Barr (EBV), infección grave por adenovirus y difteria. (También se incluiría la faringitis por *Neisseria gonorrhoeae*, pero el paciente no ha sufrido abuso sexual.) La causa de la faringitis del niño muy probablemente es
(A) Un coco grampositivo catalasa negativo que crece en cadenas
(B) Un virus de RNA monocatenario de polaridad positiva
(C) Un coco grampositivo catalasa positivo que se desarrolla en racimos
(D) Un bacilo grampositivo catalasa negativo
(E) Un virus de RNA bicatenario

7. Un mecanismo causante de la patogenia de la enfermedad del niño (pregunta 6) es
(A) Un incremento neto del monofosfato de adenosina cíclico intracelular
(B) Acción de la proteína M
(C) Acción de la proteasa de IgA1
(D) Acción de la enterotoxina A
(E) Inactivación del factor de elongación 2

8. Una mujer de 40 años de edad presenta cefalea intensa y fiebre. Su exploración neurológica es normal. Una gammagrafía cerebral muestra una lesión realzada en anillo en el hemisferio izquierdo. En la intervención quirúrgica, se encuentra un absceso cerebral. El cultivo del líquido del absceso desarrolla un bacilo anaerobio gramnegativo (*Bacteroides fragilis*) y un coco grampositivo catalasa negativo que en la tinción de Gram tiene una disposición en pares y cadenas. El microorganismo es hemolítico β y forma colonias muy pequeñas (<0.5 mm de diámetro). Una persona pensó que tenía olor a caramelo. Se aglutina con antisueros del grupo F. El microorganismo más probable es
(A) *Streptococcus pyogenes* (grupo A)
(B) *Enterococcus faecalis* (grupo D)
(C) *Streptococcus agalactiae* (grupo B)
(D) Grupo de *Streptococcus anginosus*
(E) *Staphylococcus aureus*

9. El método individual más importante para clasificar y determinar las especies de los estreptococos es
(A) Aglutinación utilizando antisueros contra la sustancia específica del grupo de la pared celular
(B) Pruebas bioquímicas
(C) Propiedades hemolíticas (α, β, no hemolíticas)
(D) Reacción de hinchazón (tumefacción) capsular
(E) Ninguno de los anteriores

10. Una niña de ocho años de edad presenta corea de Sydenham ("mal de San Vito") con tics faciales incoordinados y movimientos involuntarios de sus extremidades, que son muy sugestivos de una fiebre reumática aguda. No tiene ninguna otra manifestación primaria de fiebre reumática (carditis, artritis, nódulos subcutáneos, exantema). El cultivo faríngeo de la paciente es negativo para *Streptococcus pyogenes* (estreptococos del grupo A). Sin embargo, ella, su hermano y su madre dos meses antes tuvieron faringitis. Si resultara positiva la siguiente prueba indicaría infecciones recientes por *Streptococcus pyogenes*
(A) Título de anticuerpos antiestreptolisina S
(B) Reacción en cadena de la polimerasa para los anticuerpos contra proteína M
(C) Título de anticuerpo ASO
(D) Hidrólisis de esculina
(E) Título de anticuerpo antiácido hialurónico

11. Todas las siguientes aseveraciones en relación con la cápsula de ácido hialurónico de *Streptococcus pyogenes* son correctas, *excepto:*
(A) Es causa del aspecto mucoide de las colonias *in vitro*
(B) Es antifagocítica
(C) Se une a CD44 en células epiteliales humanas
(D) Es un factor de virulencia importante
(E) En la actualidad se dispone de una vacuna contra la cápsula

12. Los enterococos pueden distinguirse de los estreptococos no enterocócicos del grupo D basándose en cuál de las siguientes características
(A) Hemólisis γ
(B) Hidrólisis de esculina
(C) Crecimiento en NaCl al 6.5%
(D) Crecimiento en presencia de bilis
(E) Características morfológicas en la tinción de Gram

13. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno al grupo de *Streptococcus bovis* es correcta?
(A) Poseen antígeno de Lancefield del grupo D
(B) Algunas cepas son resistentes a la vancomicina
(C) Las infecciones causadas por estos microorganismos son benignas
(D) Todas las subespecies son PYR positivas
(E) Todas las subespecies son hemolíticas β

14. ¿Cuál de los siguientes géneros necesita piridoxal para desarrollarse?
(A) *Aerococcus*
(B) *Granulicatella*
(C) *Enterococcus*
(D) *Leuconostoc*
(E) *Pediococcus*

15. ¿Cuál de los siguientes géneros suele ser resistente a la vancomicina?
(A) *Aerococcus*
(B) *Gemella*
(C) *Pediococcus*
(D) *Streptococcus*
(E) *Abiotrophia*

Respuestas

1. C	5. C	9. E	13. A
2. E	6. A	10. C	14. B
3. B	7. B	11. E	15. C
4. E	8. D	12. C	

BIBLIOGRAFÍA

Arias CA, Murray BE: *Enterococcus* species, *Streptococcus bovis* group, and *Leuconostoc* species. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Bisno AL: Nonsuppurative poststreptococcal sequelae: Rheumatic fever and glomerulonephritis. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2009.

Bisno AL, Stevens DL: *Streptococcus pyogenes.* In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Chow JW: Aminoglycoside resistance in enterococci. Clin Infect Dis 2000;31:586.

Cunningham MW: Pathogenesis of group A streptococcal infections and their sequelae. Adv Exp Med Biol 2008;609:29.

Edwards MS, Baker CJ: *Streptococcus agalactiae* (group B streptococcus). In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Facklam R, Elliott JA: Identification, classification, and clinical relevance of catalase-negative, gram-positive cocci, excluding the streptococci and enterococci. Clin Microbiol Rev 1995;8:479.

Murray BE: Vancomycin-resistant enterococcal infections. N Engl J Med 2000;342:710.

Musher DM: *Streptococcus pneumoniae.* In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Petti CA, Stratton CW: *Streptococcus anginosis* group. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Ruoff KL: *Aerococcus, Abiotrophia,* and other infrequently isolated aerobic catalase-negative grampositive cocci. In: *Manual of Clinical Microbiology,* 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Ruoff, KL, Bisno AL: Classification of streptococci. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Ruoff KL, Whiley RA, Beighton D: *Streptococcus.* In: *Manual of Clinical Microbiology,* 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Schlegel L, et al: Reappraisal of the taxonomy of the *Streptococcus bovis*/*Streptococcus equinus* complex and related species: description of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* subsp. nov., *S. gallolyticus* subsp. *macedonicus* subsp. nov. and *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus* subsp. nov. International J Systematic and Evolutionary Microbiology 2003; 53:631.

Sendi P, Johansson L, Norrby-Teglund A: Invasive Group B streptococcal disease in non-pregnant adults. Infection 2008;36:100.

Sinner SW, Tunkel AR: Viridans streptococci, groups C and G streptococci, *Gemella morbillorum*. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Stollerman GH, Dale JB: The importance of the group A streptococcus capsule in the pathogenesis of human infections: a historical perspective. Clin Infect Dis 2008; 46; 1038.

Teixeira LM, Facklam RR: *Enterococcus.* In: *Manual of Clinical Microbiology,* 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Vaska VL, Faoagali JL: *Streptococcus bovis* bacteraemia: Identification within organism complex and association with endocarditis and colonic malignancy. Pathology 2009;41:183.



C A P Í T U L O

15

Bacilos gramnegativos entéricos (Enterobacteriaceae)

Las Enterobacteriaceae son un grupo heterogéneo y extenso de bacilos gramnegativos cuyo hábitat natural es el intestino del ser humano y de los animales. La familia comprende muchos géneros (*Escherichia, Shigella, Salmonella, Enterobacter, Klebsiella, Serratia, Proteus* y otros más). Algunos microorganismos entéricos, por ejemplo, *Escherichia coli,* son parte de la microflora normal y en forma incidental producen enfermedad, en tanto que otros, las salmonelas y las shigelas, por lo regular son patógenos para el ser humano. Las Enterobacteriaceae son anaerobios o aerobios facultativos, fermentan una amplia gama de hidratos de carbono, poseen una estructura antigénica compleja y producen diversas toxinas y otros factores de virulencia. Las Enterobacteriaceae, los bacilos gramnegativos entéricos y las bacterias entéricas son términos que se utilizan en este capítulo, pero estas bacterias también se denominan coliformes.

CLASIFICACIÓN

Las Enterobacteriaceae son el grupo más frecuente de bacilos gramnegativos que se cultivan en el laboratorio clínico y junto con los estafilococos y los estreptococos son las bacterias que más a menudo producen enfermedades. La taxonomía de las Enterobacteriaceae es compleja y rápidamente cambiante desde el advenimiento de técnicas que miden la distancia evolutiva, por ejemplo, la hibridación de ácido nucleico y la secuenciación de ácido nucleico. Según la base de datos informática de la taxonomía de la *National Library of Medicine* (disponible en *http://www.ncbi.nlm.nih.gov//Taxonomy//Browser/wwwtax.cgl?id=543*) se han definido más de 50 géneros; sin embargo, las Enterobacteriaceae de importancia clínica comprenden 20 a 25 especies y otras se descubren con poca frecuencia. En este capítulo se minimizarán los refinamientos taxonómicos y en general se utilizarán los nombres que suelen usarse en la bibliografía médica. En los capítulos 42, 43, 44 y 45 de Murray PR et al (editors): *Manual of Clinical Microbiology,* 9th ed. ASM Press, 2007, se presenta un método exhaustivo para la identificación de las Enterobacteriaceae.

La familia de las Enterobacteriaceae tiene las siguientes características. Son bacilos gramnegativos, ya sea móviles con flagelos, peritricosos o no móviles; se multiplican en medios con peptona o extracto de carne sin que se añada cloruro de sodio u otros suplementos; se multiplican bien en agar de MacConkey; proliferan en medios aerobios y anaerobios (son anaerobios facultativos); fermentan en vez de oxidar glucosa, a menudo produciendo gas; catalasa positiva, oxidasa negativa y reducen nitrato a nitrito; y tienen un contenido de DNA de G + C de 39 a 59%. En el cuadro 17-1 se presentan ejemplos de los análisis bioquímicos que se utilizan para diferenciar las especies de las Enterobacteriaceae. Hay muchos otros además de los enumerados. En Estados Unidos, se utilizan muchos estuches comerciales o sistemas automáticos para este fin.

Los principales grupos de Enterobacteriaceae se describen y se analizan brevemente en los siguientes párrafos. En este capítulo se describirán más adelante por separado las características específicas de salmonelas, shigelas y otros bacilos gramnegativos entéricos que tienen importancia médica y las enfermedades que producen.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las Enterobacteriaceae son bacilos gramnegativos cortos (fig. 15-1A). Se observa una morfología característica en la multiplicación en medios sólidos *in vitro*, pero las características morfológicas son muy variables en especímenes clínicos. Las cápsulas son de gran tamaño y regulares en *Klebsiella,* menos en *Enterobacter* e infrecuentes en las demás especies.

B. Cultivo

E. coli y la mayor parte de las otras bacterias entéricas forman colonias circulares, convexas y lisas con bordes distintivos. Las colonias de *Enterobacter* son similares pero un poco más mucoides. Las colonias de *Klebsiella* son grandes y muy mucoides y tienden a experimentar coalescencia con la incubación prolongada. Las salmonelas y las shigelas producen colonias similares a *E. coli* pero no fermentan lactosa. Algunas cepas de *E. coli* producen hemólisis en agar sangre.

C. Características de desarrollo

Se utilizan los patrones de fermentación de hidratos de carbono y la actividad de las descarboxilasas de aminoácidos y otras enzimas para la diferenciación bioquímica (cuadro 15-1). Algunas pruebas, por ejemplo, la producción de indol a partir de triptófano, suelen utilizarse en sistemas de identificación rápida, en

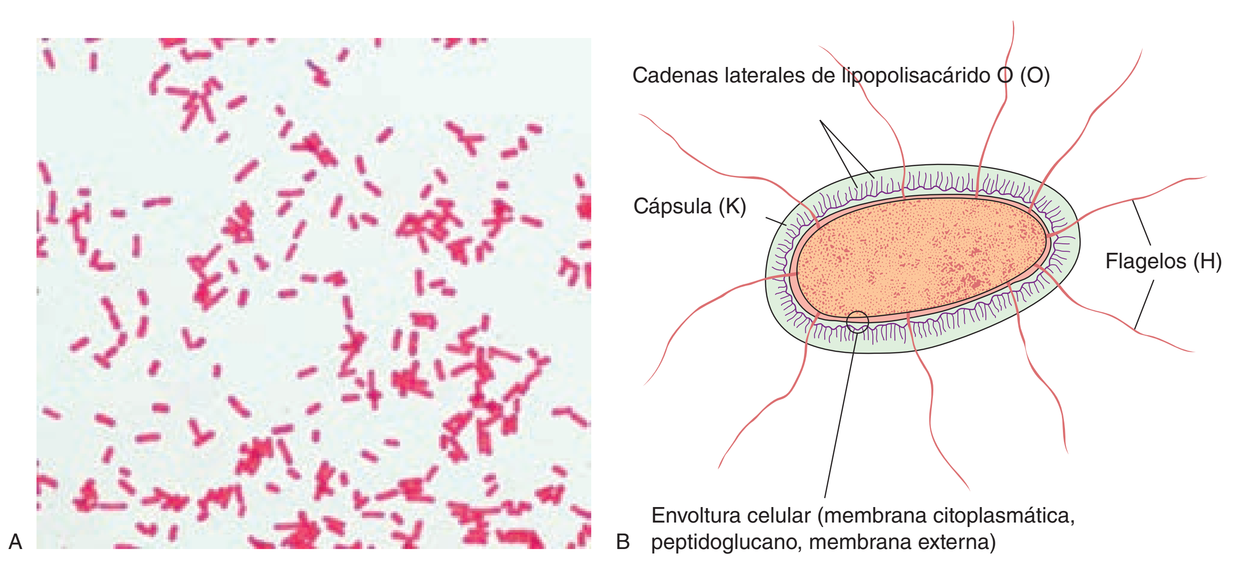


FIGURA 15-1 **A:** Tinción de Gram de *Escherichia coli*. Aumento original × 1 000. (Cortesía de H. Reyes.) **B:** Estructura antigénica de las Enterobacteriaceae.

tanto que otras, por ejemplo, la reacción de Voges-Proskauer (producción de acetilmetilcarbinol a partir de dextrosas) se utilizan con menos frecuencia. El cultivo en medios "diferenciales" que contienen colorantes especiales e hidratos de carbono (p. ej., eosina-azul de metileno [EMB, *eosin-methylene-blue*], de MacConkey o medio de desoxicolato) distingue a las colonias que fermentan lactosa (de color) de las que no fermentan lactosa (no pigmentadas) y permite la identificación presuntiva rápida de las bacterias entéricas (cuadro 15-2).

Se han ideado muchos medios complejos para tratar de identificar las bacterias entéricas. Uno de estos medios es el agar en hierro con azúcar triple (TSI, *triple sugar iron*), que a menudo se utiliza para ayudar a diferenciar las salmonelas y las shigelas de otros bacilos gramnegativos entéricos en los coprocultivos. El medio contiene glucosa al 0.1%, sacarosa al 1%, lactosa al 1%, sulfato ferroso (para la detección de la producción de H_2S), extractos de tejido (sustrato de crecimiento con proteínas) y un indicador de pH (rojo de fenol). Se vierte en un tubo de ensayo para producir una inclinación con un extremo profundo y es inoculado encajando la proliferación bacteriana en el extremo. Si sólo se fermenta glucosa, la inclinación y el extremo al principio adoptan un color amarillo por la pequeña cantidad de ácido que se produce; a medida que los productos de la fermentación son oxidados después a CO_2 y H_2O y liberados de la inclinación y conforme continúa la descarboxilación oxidativa de las proteínas con la formación de aminas, la inclinación se vuelve alcalina (roja). Si se fermenta lactosa o sacarosa, se produce tanto ácido que la inclinación y el extremo se mantienen amarillos (ácidos). Las salmonelas y las shigelas suelen producir una inclinación alcalina y un extremo ácido. Aunque *Proteus, Providencia* y *Morganella* producen una inclinación alcalina y un extremo ácido, se pueden identificar por su formación rápida de color rojo en el medio de urea agar base (Christensen). Los microorganismos que producen ácido en la inclinación y ácido y gas (burbujas) en el extremo son otras bacterias entéricas.

1. *Escherichia.* *E. coli* suele producir pruebas con positividad para indol, lisina descarboxilasa y fermentación de manitol y produce gas a partir de glucosa. Una cepa de la orina se puede identificar rápidamente como *E. coli* por su hemólisis en agar sangre, su morfología de colonia característica con un lustre "iridiscente" en medios diferenciadores como agar EMB y una prueba de indol de mancha positiva. Más de 90% de las cepas de *E. coli* tiene positividad para glucuronidasa β si se utiliza el sustrato 4-metilumbeliferil-β-glucurónido (MUG). Las cepas de otros lugares anatómicos además de la orina, con propiedades características (pruebas de oxidasa por encima de la negatividad adicional) a menudo se pueden confirmar como *E. coli* con una prueba de MUG positiva.

2. Grupo de *Klebsiella-Enterobacter-Serratia.* Las bacterias del género *Klebsiella* muestran multiplicación mucoide, cápsulas de polisacárido de gran tamaño y falta de motilidad, y por lo general producen pruebas positivas para lisina descarboxilasa y citrato. La mayor parte del género *Enterobacter* produce pruebas positivas para motilidad, citrato y descarboxilasa de ornitina y produce gas a partir de glucosa. *Enterobacter aerogenes* tiene cápsulas pequeñas. *Serratia* produce DNasa, lipasa y gelatinasa. *Klebsiella, Enterobacter* y *Serratia* por lo general producen reacciones de Voges-Proskauer positivas.

3. Grupo de *Proteus-Morganella-Providencia.* Los miembros de este grupo desaminan fenilalanina, son móviles, se multiplican en medio de cianuro de potasio (KCN) y fermentan xilosa. Las bacterias del género *Proteus* se mueven muy activamente por medio de flagelos peritricosos, lo que da como resultado "enjambre" en medios sólidos a menos que el enjambre se inhiba por sustancias químicas, por ejemplo, feniletil alcohol o medio de CLED (deficiente en cistina-lactosa-electrólitos). Las bacterias del género *Proteus* y *Morganella morganii* producen ureasa, en tanto que las bacterias del género *Providencia* no suelen producirla. El grupo *Proteus-Providencia* fermenta lactosa con mucha lentitud o no la fermenta siquiera. *Proteus mirabilis* es más susceptible a los fármacos antimicrobianos, como penicilina, que otros miembros del grupo.

CUADRO 15-1 Ejemplos de reacciones bioquímicas y algunos bacilos gramnegativos entéricos [a]

	Producción de indol	Rojo de metilo	Voges-Proskauer	Citrato de Simmon	Sulfuro de hidrógeno	Hidrólisis de urea	Fenilalanina desaminasa	Lisina descarboxilasa	Arginina dihidrolasa	Ornitina descarboxilasa	Motilidad (36°C)	Hidrólisis de gelatina (22°C)	D-glucosa, ácido	D-glucosa, gas	Fermentación de lactosa	Fermentación de sacarosa	Fermentación de D-manitol	Fermentación de dulcitol	Fermentación de adonitol	Fermentación de D-sorbitol	Fermentación de L-arabinosa	Fermentación de rafinosa	Fermentación de L-ramnosa	Fermentación de D-xilosa	Fermentación de melibiosa
Citrobacter freundii	5	100	0	95	80	70	0	0	65	20	95	0	100	95	50	30	99	55	0	98	100	30	999	99	50
Enterobacter aerogenes	0	5	98	95	0	2	0	98	0	98	97	0	100	100	95	100	100	5	98	100	100	96	99	100	99
Enterobacter cloacae	0	5	100	100	0	65	0	0	97	96	95	0	100	100	93	97	100	15	25	95	100	92	100	100	90
Escherichia coli	98	99	0	1	1	1	0	90	17	65	95	0	100	95	95	50	98	60	5	94	99	50	80	95	75
Klebsiella pneumoniae	0	10	98	98	0	95	0	98	0	0	0	0	100	97	98	99	99	30	90	99	99	99	99	99	99
Klebsiella oxytoca	99	20	95	95	0	90	1	99	0	0	0	0	100	97	10	100	99	55	99	99	98	100	100	100	99
Morganella morganii	98	97	0	0	5	98	95	0	0	98	95	0	100	90	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Proteus mirabilis	2	97	50	65	98	98	98	0	0	99	95	90	100	96	2	15	0	0	0	0	0	1	1	98	0
Salmonella choleraesuis	0	100	0	25	50	0	0	95	55	100	95	0	100	95	0	0	98	5	0	90	0	1	100	98	45
Salmonella typhi	0	100	0	0	97	0	0	98	3	0	97	0	100	0	1	0	100	0	0	99	2	0	98	82	100
Salmonella, la mayor parte serotipos	1	100	0	95	95	1	0	98	70	97	95	0	100	96	1	1	100	96	0	95	99	2	95	97	95
Serratia marcescens	1	20	98	98	0	15	0	99	0	99	97	90	100	55	2	99	99	0	40	99	0	2	0	7	0
Shigella sonnei	0	100	0	0	0	0	0	0	2	98	0	0	100	0	2	1	99	0	0	2	95	3	75	2	25
Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella boydii	50	100	0	0	0	0	0	0	5	1	0	0	100	2	0	0	99	2	0	30	60	50	5	2	50

[a] Adaptado con autorización de Famer JJ III et al: Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. J Clin Microbiol 1984;21:46.

CUADRO 15-2 Identificación rápida y presuntiva de bacterias entéricas gramnegativas

Lactosa fermentada con rapidez
Escherichia coli: brillo metálico en medios diferenciales; colonias móviles; colonias planas no viscosas
Enterobacter aerogenes: colonias elevadas, sin brillo metálico; a menudo móviles; proliferación más viscosa
Enterobacter cloacae: similar a *Enterobacter aerogenes*
Klebsiella pneumoniae: multiplicación muy viscosa, mucoide; no móviles
Lactosa fermentada con lentitud
Edwardsiella, Serratia, Citrobacter, Arizona, Providencia, Erwinia
Lactosa no fermentada
Especies de *Shigella:* no móviles; no producción de gas a partir de dextrosa
Especies de *Salmonella:* móviles; formación de ácido y por lo general gas a partir de dextrosa
Especies de *Proteus:* "proliferación" en agar; urea rápidamente hidrolizada (olor a amoniaco)
Especies de *Pseudomonas* (cap. 16): pigmentos solubles, azul verdoso y fluorescente; olor dulce

4. *Citrobacter.* Estas bacterias suelen producir citrato y difieren de las salmonelas en que no descarboxilan lisina. Fermentan lactosa con gran lentitud en el peor de los casos.

5. *Shigella.* Las shigelas son no móviles y por lo general no fermentan lactosa pero sí fermentan otros hidratos de carbono, produciendo ácido pero no gas. No producen H_2S. Las cuatro bacterias del género *Shigella* están muy relacionadas con *E. coli.* Muchas comparten antígenos comunes entre sí y con otras bacterias entéricas (p. ej., *Hafnia alvei* y *Plesiomonas shigelloides*).

6. *Salmonella.* Las salmonelas son bacilos móviles que de manera característica fermentan glucosa y manosa sin producir gas pero no fermentan lactosa ni sacarosa. La mayor parte de las salmonelas producen H_2S. A menudo son patógenas para el ser humano o los animales cuando se ingieren. Los microorganismos originalmente descritos en el género "*Arizona*" se incluyen como subespecies del grupo *Salmonella.*

7. Otras Enterobacteriaceae. Las bacterias del género *Yersinia* se describen en el capítulo 19. En ocasiones se detectan otros géneros en infecciones humanas como *Edwardsiella* y *Ewingella, Hafnia, Cedecea* y *Kluyvera.*

Estructura antigénica

Las Enterobacteriaceae tienen una estructura antigénica compleja. Se clasifican en más de 150 diferentes antígenos somáticos termolábiles O diferentes (lipopolisacáridos), más de 100 antígenos K (capsulares) termolábiles y más de 50 antígenos H (flagelares) (fig. 15-1B). En *Salmonella typhi,* los antígenos capsulares se denominan antígenos Vi.

Los **antígenos O** son la parte más externa del lipopolisacárido de la pared celular y constan de unidades repetidas de polisacáridos. Algunos polisacáridos O específicos contienen azúcares únicos. Los antígenos O son resistentes al calor y al alcohol y por lo general se detectan mediante la aglutinación bacteriana. Los anticuerpos a los antígenos O son predominantemente IgM.

Si bien cada género de las Enterobacteriaceae se relaciona con grupos O específicos, un solo microorganismo puede portar varios antígenos O. Por consiguiente, la mayor parte de las shigelas comparten uno o más antígenos O con *E. coli.* Esta última puede producir reacción cruzada con algunas especies de los géneros *Providencia, Klebsiella* y *Salmonella.* En ocasiones, los antígenos O se relacionan con enfermedades humanas específicas, por ejemplo, tipos O específicos de *E. coli* se detectan en la diarrea y en las infecciones del sistema urinario.

Los **antígenos K** son externos a los antígenos O en algunas Enterobacteriaceae pero no en todas. Algunos son polisacáridos, y comprenden los antígenos K de *E. coli;* otros son proteínas. Los antígenos K pueden interferir en la aglutinación por antisuero O y relacionarse con virulencia (p. ej., las cepas de *E. coli* productoras de antígeno K1 sobresalen en la meningitis neonatal y los antígenos K de *E. coli* producen la adherencia de las bacterias a las células epiteliales antes de la invasión del tubo digestivo o del sistema urinario).

Las klebsielas forman grandes cápsulas que constan de polisacáridos (antígenos K) que recubren los antígenos somáticos (O o H) y se pueden identificar mediante las pruebas de hinchazón capsular con antisueros específicos. Las infecciones del sistema respiratorio en seres humanos son causadas sobre todo por los tipos capsulares 1 y 2; las del sistema urinario por los tipos 8, 9, 10 y 24.

Los **antígenos H** están situados en los flagelos y son desnaturalizados o eliminados mediante calor o alcohol. Se conservan mediante el tratamiento de las variantes bacterianas móviles con formalina. Estos antígenos H se aglutinan con anticuerpos anti-H, principalmente IgG. Los determinantes en los antígenos H dependen de la secuencia de aminoácido en la proteína flagelar (flagelina). Dentro de un solo serotipo, puede haber antígenos flagelares en una o en las dos formas, denominadas fase 1 (tradicionalmente designadas por letras minúsculas) y fase 2 (tradicionalmente designadas por numerales arábigos), según se muestra en el cuadro 15-3. El microorganismo tiende a cambiar de una fase a otra; esto se denomina variación de fase. Los antígenos H en la superficie bacteriana pueden interferir con la aglutinación por anticuerpos contra antígeno O.

Existen muchos ejemplos de estructuras antigénicas imbricadas entre Enterobacteriaceae y otras bacterias. La mayor parte de las Enterobacteriaceae comparten el antígeno O14 de *E. coli.* El polisacárido capsular de tipo 2 de *Klebsiella* es muy similar al polisacárido de los neumococos de tipo 2. Algunos antígenos K presentan reacción cruzada con polisacáridos capsulares de *Haemophilus influenzae* o *Neisseria meningitidis.* Por consiguiente, *E. coli* O75:K100:H5 puede activar la formación de anticuerpos que reaccionen con *H. influenzae* B. La clasificación antigénica de las Enterobacteriaceae suele indicar la presencia de cada antígeno específico. Por consiguiente, la fórmula antigénica de un *E. coli* puede ser O.55:K5:H21; la de *Salmonella* Schottmülleri es O1,4,5,12:Hb:1,2.

Colicinas (bacteriocinas)

Muchos microorganismos gramnegativos producen bacteriocinas. Estas moléculas bactericidas de gran peso molecular son producidas por ciertas cepas de bacterias activas contra algunas otras cepas de la misma especie o de una especie muy relacio-

CUADRO 15-3 Fórmulas antigénicas representativas de salmonela

Grupo O	Serotipo	Fórmula antigénica[a]
D	*Salmonella* Typhi	9, 12 (Vi):d:—
A	*Salmonella* Parathyphi A	1, 2, 12:a—
C_1	*Salmonella* Choleraesuis	6, 7:c:1,5
B	*Salmonella* Thyphimurium	1, 4, 5, 12:i:1, 2
D	*Salmonella* Enteritidis	1, 9, 12:g, m:—

[a]Antígenos O: numerales.
(Vi): antígeno Vi si está presente.
Antígeno H de fase 1: letras minúsculas.
Antígeno H de fase 2: numerales.

nada. Su producción es controlada por plásmidos. Las colicinas son producidas por *E. coli,* marcescens por *Serratia* y las piocinas por *Pseudomonas.* Las cepas productoras de bacteriocinas son resistentes a sus propias bacteriocinas; por consiguiente, se pueden utilizar para la "tipificación" de los microorganismos.

Toxinas y enzimas

La mayor parte de las bacterias gramnegativas poseen lipopolisacáridos complejos en sus paredes celulares. Tales sustancias, endotoxinas de la envoltura de la célula (membrana citoplásmica, peptidoglucano, membrana externa) tienen diversos efectos fisiopatológicos que se resumen en el capítulo 9. Muchas bacterias entéricas gramnegativas también producen exotoxinas de importancia clínica. Algunas toxinas específicas se describen en las secciones subsiguientes.

ENFERMEDADES CAUSADAS POR ENTEROBACTERIACEAE DIFERENTES A *SALMONELLA* Y *SHIGELLA*

Microorganismos causantes

E. coli es un miembro de la microflora intestinal normal (cap. 10). Otras bacterias entéricas (*Proteus, Enterobacter, Klebsiella, Morganella, Providencia, Citrobacter* y *Serratia*) también se encuentran como miembros de la microflora intestinal normal pero son bastante menos frecuentes que *E. coli.* Las bacterias entéricas a veces se detectan en pequeños números como parte de la microflora normal del sistema respiratorio alto y el aparato genital. Las bacterias entéricas por lo general no producen enfermedad y en el intestino pueden incluso contribuir a una función y nutrición normal. Cuando se presentan infecciones de importancia clínica, suelen deberse a *E. coli,* pero las demás bacterias entéricas son causa de infecciones hospitalarias y a veces producen infecciones extrahospitalarias. Las bacterias se vuelven patógenas sólo cuando alcanzan a los tejidos fuera de sus zonas intestinales normales u otros sitios de microflora normal menos frecuente. Los lugares más frecuentes de infecciones de importancia clínica son el sistema urinario, las vías biliares y otras zonas en la cavidad abdominal, pero cualquier zona anatómica (p. ej., circulación sanguínea, glándula prostática, pulmón, hueso, meninges) puede ser el lugar afectado por una enfermedad. Algunas de las bacterias entéricas (p. ej., *Serratia marcescens, Enterobacter aerogenes*) son microorganismos patógenos oportunistas. Cuando las defensas normales del hospedador son inadecuadas, sobre todo en la lactancia o en la vejez, en las etapas terminales de otras enfermedades después de la inmunodepresión o en pacientes con catéteres venosos o sondas uretrales a permanencia, pueden presentarse infecciones importantes circunscritas y las bacterias pueden llegar al torrente sanguíneo y producir septicemia.

Patogenia y manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas de las infecciones por *E. coli* y las otras bacterias entéricas dependen del lugar de la infección y no se pueden distinguir por los síntomas o los signos de procesos causados por otras bacterias.

A. *E. coli*

1. Infección del sistema urinario. *E. coli* es la causa más frecuente de infección de las vías urinarias y contribuye a casi 90% de las primeras infecciones urinarias en mujeres jóvenes (cap. 48). Los síntomas y signos consisten en polaquiuria, disuria, hematuria y piuria. El dolor en la fosa renal se relaciona con infección urinaria alta. Ninguno de estos síntomas o signos es específico de la infección por *E. coli.* La infección del sistema urinario puede ocasionar bacteriemia con signos clínicos de septicemia.

La mayor parte de las infecciones urinarias que afectan a la vejiga o al riñón en un hospedador por lo demás sano son causadas por un pequeño número de tipos de antígeno o que han elaborado específicamente factores de virulencia que facilitan la colonización y las infecciones clínicas subsiguientes. Tales microorganismos se designan como *E. coli* uropatógena. Por lo general estos microorganismos producen hemolisina, que es citotóxica y facilita la invasión de los tejidos. Las cepas que producen pielonefritis expresan el antígeno K y elaboran fimbrias P que se unen al antígeno del grupo sanguíneo P.

2. Enfermedades diarreicas relacionadas con *E. coli.* *E. coli* que produce diarrea es muy frecuente en todo el mundo. Estos microorganismos *E. coli* se clasifican según las características de sus propiedades de virulencia (véase adelante) y cada grupo causa enfermedad por diferentes mecanismos. Las propiedades de adherencia a las células epiteliales del intestino delgado o grueso son codificadas por genes presentes en los plásmidos. Asimismo, las toxinas a menudo son mediadas por plásmido o fago. Algunos aspectos clínicos de las enfermedades diarreicas se describen en el capítulo 48.

***E. coli* enteropatógena (EPEC)** es una causa importante de diarrea en los lactantes, sobre todo en los países en vías de desarrollo. EPEC se relacionaba con brotes epidémicos de diarrea en guarderías de países desarrollados. EPEC se adhiere a las células de la mucosa del intestino delgado. Los factores mediados por cromosomas favorecen la adherencia. Hay una pérdida de las microvellosidades (aplanamiento), formación de pedestales de actina filamentosa o estructuras similares a copas y, en ocasiones, entrada de EPEC en las células de la mucosa. Se pueden ver lesiones características en las microfotografías electrónicas

de las lesiones de biopsia del intestino delgado. El resultado de la infección por EPEC es diarrea líquida, que suele ceder en forma espontánea pero puede ser crónica. La diarrea por EPEC se relaciona con múltiples serotipos específicos de *E. coli.* Se identifican las cepas por el antígeno O y a veces por la tipificación del antígeno H. Se puede realizar un modelo de infección de dos etapas en que se utilizan células HEp-2. Las pruebas para identificar EPEC se realizan en laboratorios de referencia. La duración de la diarrea por EPEC puede abreviarse y la diarrea crónica curarse con tratamiento con antibióticos.

***E. coli* enterotoxígena (ETEC)** es una causa frecuente de "diarrea del viajero" y es una causa muy importante de diarrea en los lactantes de países en vías de desarrollo. Los factores de colonización de ETEC específicos para los seres humanos favorecen la adherencia de ETEC a las células epiteliales del intestino delgado. Algunas cepas de ETEC producen una **exotoxina termolábil** (LT) (PM 80 000) que está sujeta a control genético de un plásmido. Su subunidad B se adhiere al gangliósido GM_1 en el borde en cepillo de las células epiteliales del intestino delgado y facilita la entrada de la subunidad A (PM 26 000) en la célula, donde la última activa a la adenilil ciclasa. Esto incrementa notablemente la concentración local del monofosfato de adenosina cíclico (cAMP), lo cual produce una secreción intensa y prolongada de agua y cloruros e inhibe la reabsorción de sodio. La luz intestinal se distiende con líquido y sobreviene hipermotilidad y diarrea, que persiste por varios días. La exotoxina termolábil es antigénica y presenta reacción cruzada con la enterotoxina de *Vibrio cholerae.* LT estimula la producción de anticuerpos neutralizantes en el suero (y tal vez en la superficie intestinal) de personas previamente infectadas con *E. coli* enterotoxígena. Las personas que radican en zonas donde estos microorganismos son muy frecuentes (p. ej., en algunos países en vías de desarrollo) tienen posibilidades de tener anticuerpos y de ser menos propensas a desarrollar diarrea al volverse a exponer a *E. coli* productora de LT. Los análisis para la detección de LT son los siguientes: 1) acumulación de líquido en el intestino de animales de laboratorio; 2) cambios citológicos característicos en las células de ovario de cobayo chino en cultivo u otros linajes celulares; 3) estimulación de la producción de esteroides en las células de tumores suprarenales cultivadas, y 4) fijación y análisis inmunológicos con antisueros normalizados a LT. Estos análisis se realizan sólo en laboratorios especializados.

Algunas cepas de ETEC producen la **enterotoxina termoestable** ST_a (PM 1 500 a 4 000), que está bajo el control genético de un grupo heterogéneo de plásmidos. ST_a activa a la guanilil ciclasa en las células epiteliales entéricas y estimula la secreción de líquido. Muchas cepas positivas para ST_a también producen LT. Las cepas con las dos toxinas causan diarrea más grave.

Los plásmidos portadores de los genes para las enterotoxinas (LT, ST) también pueden portar genes para los **factores de colonización** que facilitan la adherencia de las cepas de *E. coli* en el epitelio intestinal. Los factores de colonización reconocidos ocurren con especial frecuencia en algunos serotipos. Determinados serotipos de ETEC se presentan en todo el mundo; otros tienen una distribución limitada reconocida. Es posible que casi cualquier *E. coli* pueda adquirir un plásmido que codifica las enterotoxinas. No hay ninguna relación definida de ETEC con cepas de EPEC que produzcan diarrea en los niños. Asimismo, no hay ninguna relación entre las cepas enterotoxígenas y las que pueden invadir células del epitelio intestinal.

Es muy recomendable la atención en la selección y el consumo de alimentos potencialmente contaminados con ETEC para tratar de evitar la diarrea del viajero. La profilaxis antimicrobiana puede ser eficaz pero es posible que cause incremento de la resistencia de las bacterias a los antibióticos y no siempre debe recomendarse. Una vez que sobreviene diarrea, el tratamiento con antibióticos abrevia de manera eficaz su duración.

***E. coli* productora de toxina Shiga (STEC)**se denomina así por las toxinas citotóxicas que produce. Hay por lo menos dos formas antigénicas de la toxina designadas como toxina similar a Shiga 1 y toxina similar a Shiga 2. STEC se ha relacionado con colitis hemorrágica, una forma grave de diarrea, y con el síndrome hemolítico urémico, una enfermedad que desencadena insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia. Las toxinas similares a Shiga tienen muchas propiedades que son parecidas a la toxina Shiga producida por algunas cepas de *Shigella dysenteriae* de tipo 1; sin embargo, las dos toxinas son diferentes desde el punto de vista antigénico y genético. De los serotipos de *E. coli* que producen toxina Shiga, O157:H7 es el más frecuente y es el que se puede identificar en muestras clínicas. STEC O157:H7 no utiliza sorbitol, a diferencia de casi todos los demás *E. coli* y tiene negatividad en sorbitol. Y tiene negatividad en agar de MacConkey con sorbitol (se utiliza sorbitol en vez de lactosa). Las cepas O157:H7 también son negativas en las pruebas MUG (véase antes). Muchos de los serotipos no-O157 pueden ser positivos para sorbitol cuando se multiplican en cultivo. Se utilizan antisueros específicos para identificar las cepas O157:H7. Los análisis para la toxina Shiga que utilizan inmunoanálisis enzimáticos disponibles en el mercado se realizan en muchos laboratorios. Otros métodos sensibles incluyen pruebas de citotoxina en cultivo celular usando células Vero y la reacción en cadena de la polimerasa para la detección directa de los genes de toxina a partir de muestras fecales. Muchos casos de colitis hemorrágica y sus complicaciones relacionadas pueden evitarse mediante la cocción minuciosa de la carne molida.

***E. coli* enteroinvasiva (EIEC)** produce una enfermedad muy similar a la shigelosis. La enfermedad ocurre más a menudo en los niños en países en vías de desarrollo y en personas que viajan a estos países. Al igual que *Shigella*, las cepas de EIEC no fermentan lactosa o la fermentan en una etapa tardía y son no móviles. EIEC produce enfermedad al invadir las células epiteliales de la mucosa intestinal.

***E. coli* enteroagregativa (EAEC)** produce una diarrea aguda y crónica (mayor de 14 días de duración) en personas de países en vías de desarrollo. Estos microorganismos son también la causa de enfermedades transmitidas en los alimentos en los países industrializados. Se caracterizan por sus pautas específicas de adherencia a las células humanas. EAEC produce toxina similar a ST (véase antes) y una hemolisina.

3. Septicemia. Cuando las defensas normales del hospedador son inadecuadas, *E. coli* puede llegar al torrente sanguíneo y producir septicemia. Los recién nacidos son muy susceptibles a septicemia con *E. coli* porque carecen de anticuerpos IgM. La septicemia puede presentarse como consecuencia de la infección del sistema urinario.

4. Meningitis. *E. coli* y estreptococos del grupo B son las principales causas de meningitis en los lactantes. Casi 75% de las *E. coli* de casos de meningitis tienen el antígeno K1. Este an-

tígeno reacciona en forma cruzada con el polisacárido capsular del grupo B de *N. meningitidis.* No se ha esclarecido el mecanismo de virulencia relacionado con el antígeno K1.

B. *Klebsiella-Enterobacter-Serratia; Proteus-Morganella-Providencia;* y *Citrobacter*

La patogenia de la enfermedad causada por estos grupos de bacilos gramnegativos entéricos es similar a la de los factores inespecíficos en la enfermedad causada por *E. coli.*

1. *Klebsiella.* *K. pneumoniae* está presente en el sistema respiratorio y en las heces de casi 5% de las personas sanas. Produce una pequeña proporción (alrededor de 1%) de las neumonías bacterianas. *K. pneumoniae* puede producir una consolidación pulmonar necrosante por hemorragia extensa. Produce infecciones urinarias y bacteriemia con lesiones focales en pacientes débiles. Otros microorganismos entéricos también producen neumonía. Las bacterias del género *Klebsiella* figuran entre las 10 principales bacterias patógenas que ocasionan infecciones hospitalarias. Se han aislado otras dos klebsielas relacionadas con trastornos inflamatorios de las vías respiratorias altas: *Klebsiella pneumoniae* subespecie *ozaenae* de la mucosa nasal en ozena, una atrofia fétida y progresiva de las mucosas; y *Klebsiella pneumoniae* subespecie *rhinoscleromatis* del rinoescleroma, un granuloma destructor de la nariz y la faringe. *Klebsiella granulomatis* (antes *Calymmatobacterium granulomatis*) produce una enfermedad ulcerosa genital crónica.

2. *Enterobacter.* Tres bacterias del género *Enterobacter, E. cloacae, E. aerogenes* y *E. zakazakii* (recién cambiado al género *Cronobacter*), producen la mayor parte de las infecciones por bacterias del género *Enterobacter.* Estas bacterias fermentan lactosa, pueden contener cápsulas que producen colonias mucoides y son móviles. Tales microorganismos son causa de una amplia gamma de infecciones hospitalarias como neumonía, infecciones urinarias, infecciones de heridas y dispositivos. La mayor parte de las cepas poseen una lactamasa β cromosómica denominada *ampC* que las vuelven intrínsecamente resistentes a la ampicilina y a las cefalosporinas de primera y segunda generaciones. Las mutantes suelen producir en exceso lactamasa β que confiere resistencia a las cefalosporinas de tercera generación.

3. *Serratia.* *S. marcescens* es un microorganismo patógeno oportunista frecuente en pacientes hospitalizados. *Serratia* (por lo general no pigmentada) produce neumonía, bacteriemia y endocarditis, sobre todo en adictos a narcóticos y en pacientes hospitalizados. Sólo cerca de 10% de las cepas forma el pigmento rojo (prodigiosina) que por mucho tiempo ha caracterizado a *Serratia marcescens. S. marcescens* suele tener resistencia a múltiples aminoglucósidos y penicilinas; las infecciones se pueden tratar con cefalosporinas de tercera generación.

4. *Proteus.* Las bacterias del género *Proteus* producen infecciones en el ser humano sólo cuando las bacterias salen del tubo digestivo. Se encuentran presentes en las infecciones urinarias y producen bacteriemia, neumonía y lesiones focales en pacientes débiles o en los que reciben infusiones intravenosas. *P. mirabilis* produce infecciones de las vías urinarias y en ocasiones otras infecciones. *Proteus vulgaris* y *Morganella morganii* son microorganismos patógenos de infecciones hospitalarias.

Las bacterias del género *Proteus* producen ureasa, que resulta en una hidrólisis rápida de la urea con liberación de amoniaco. Por consiguiente, en las infecciones de las vías urinarias con *Proteus,* la orina se vuelve alcalina y favorece la formación de cálculos imposibilitando prácticamente la acidificación. La motilidad rápida de *Proteus* puede contribuir a la invasión del sistema urinario.

Las cepas de *Proteus* tienen una sensibilidad muy variable a los antibióticos. *P. mirabilis* suele inhibirse con penicilinas; los antibióticos más activos de otros miembros del grupo son los aminoglucósidos y las cefalosporinas.

5. *Providencia.* Las bacterias del género *Providencia* (*Providencia rettgeri, Providencia alcalifaciens* y *Providencia stuartii*) son miembros de la microflora intestinal normal. Todos producen infecciones urinarias y a menudo son resistentes al tratamiento antimicrobiano.

6. *Citrobacter.* *Citrobacter* puede causar infecciones urinarias y septicemia.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras incluyen orina, sangre, pus, líquido cefalorraquídeo, esputo u otro material orgánico, según lo determine la ubicación del proceso patológico.

B. Frotis

Las Enterobacteriaceae tienen una estructura morfológica parecida entre sí. La presencia de grandes cápsulas es sugestiva de *Klebsiella.*

C. Cultivo

Las muestras se colocan en placas de agar sangre y medios diferenciadores. Con los medios diferenciadores, a menudo es factible la identificación preliminar rápida de las bacterias entéricas gramnegativas (cap. 47).

Inmunidad

Los anticuerpos específicos se presentan en infecciones sistémicas, pero no se ha determinado si después ocurre inmunidad importante contra los microorganismos.

Tratamiento

No se dispone de ningún tratamiento individual específico. Las sulfonamidas, la ampicilina, las cefalosporinas, las fluoroquinolonas y los aminoglucósidos tienen efectos antibacterianos notables contra los entéricos, pero es importante la variación de la susceptibilidad y las pruebas de laboratorio para conocer la susceptibilidad a los antibióticos. Es frecuente la resistencia a múltiples fármacos y está sujeta al control de plásmidos transmisibles.

Determinados trastornos que predisponen a la infección por estos microorganismos necesitan corrección quirúrgica, por

ejemplo, el alivio de la obstrucción de las vías urinarias, el cierre de una perforación de un órgano abdominal o la resección de la porción bronquiectásica del pulmón.

El tratamiento de la bacteriemia por gramnegativos y el choque séptico inminente exigen la instauración rápida de antimicrobianos, el restablecimiento del equilibrio hidroelectrolítico y el tratamiento de la coagulación intravascular diseminada.

Se han propuesto diversos medios para la prevención de la diarrea del viajero, como la ingestión diaria de suspensión de subsalicilato de bismuto (el subsalicilato de bismuto puede inactivar la enterotoxina de *E. coli in vitro*) y dosis periódicas de tetraciclinas u otros antimicrobianos por periodos limitados. Puesto que ninguno de estos métodos es por completo eficaz ni carece de efectos adversos, se recomienda en general tener precaución con respecto al consumo de alimentos y bebidas en zonas donde las condiciones sanitarias del medio ambiente son deficientes y que el tratamiento temprano y breve (p. ej., con ciprofloxacina o trimetoprim-sulfametoxazol) sustituya a la profilaxis.

Epidemiología, prevención y control

Las bacterias entéricas se establecen en el tubo digestivo normal pocos días después del nacimiento y a partir de entonces constituyen una porción importante de la microflora bacteriana aerobia (anaerobios facultativos) normal. *E. coli* es el prototipo. Los microorganismos entéricos que se encuentran en agua o leche son aceptados como prueba de contaminación fecal por residuos u otras fuentes.

Las medidas de control no son factibles por lo que respecta a la microflora endógena normal. Los serotipos de *E. coli* enteropatógena debieran controlarse como las salmonelas (véase adelante). Algunos de los microorganismos entéricos constituyen un problema importante en los hospitales. Es muy importante reconocer que muchas bacterias entéricas son "oportunistas" que producen enfermedad cuando se introducen en pacientes debilitados. En los hospitales o en otras instituciones, tales bacterias por lo común las transmite el personal, instrumentos o administración de fármacos parenterales. Su control depende del lavado de manos, asepsia rigurosa, esterilización del equipo, desinfección, restricción en el tratamiento intravenoso y precauciones estrictas para mantener estéril el sistema urinario (es decir, drenaje cerrado).

LAS SHIGELAS

El hábitat natural de las shigelas está limitado al tubo digestivo de seres humanos y otros primates, donde producen disentería bacilar.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las shigelas son bacilos gramnegativos delgados; las formas cocobacilares se presentan en cultivos de jóvenes.

B. Cultivo

Las shigelas son anaerobios facultativos pero se multiplican mejor en condiciones aeróbicas. Las colonias convexas, circulares, transparentes con bordes intactos alcanzan un diámetro de casi 2 mm en 24 h.

C. Características de crecimiento

Todas las shigelas fermentan glucosa. Con excepción de *Shigella sonnei* ellas no fermentan lactosa. La imposibilidad para fermentar lactosa distingue a las shigelas en los medios diferenciadores. Las shigelas forman ácido a partir de hidratos de carbono pero pocas veces producen gas. También se dividen en las que fermentan manitol y en las que no lo fermentan (cuadro 15-4).

Estructura antigénica

Las shigelas tienen un patrón antigénico complejo. Hay gran superposición en el comportamiento serológico de diferentes especies y la mayor parte de ellas comparten antígenos O con otros bacilos entéricos.

Los antígenos O somáticos de las shigelas son lipopolisacáridos. Su especificidad serológica depende del polisacárido. Existen más de 40 serotipos. La clasificación de las shigelas se basa en las características bioquímicas y antigénicas. En el cuadro 15-4 se muestran las especies patógenas.

Patogenia y anatomía patológica

Las infecciones por *Shigella* casi siempre están limitadas al tubo digestivo; la invasión de la circulación sanguínea es poco frecuente. Las shigelas son muy transmisibles; la dosis infecciosa es del orden de 10^3 microorganismos (en tanto que por lo general es de 10^5 a 10^8 para salmonelas y vibrios). El proceso patológico esencial es la invasión de las células del epitelio de la mucosa (p. ej., las células M) por la fagocitosis activada, el escape de la vacuola fagocítica, la multiplicación y la diseminación dentro del citoplasma de la célula epitelial y su paso a las células adyacentes. Los microabscesos de la pared del intestino grueso y la porción terminal del intestino desencadenan necrosis de la mucosa, ulceración superficial, hemorragia y formación de una "seudomembrana" en la zona ulcerosa. Ésta consta de fibrina, leucocitos, residuos celulares, una mucosa necrótica y bacterias. A medida que cede el proceso, el tejido de granulación llena las úlceras y se forma un tejido cicatrizal.

Toxinas

A. Endotoxina

Con la autólisis, todas las shigelas liberan su lipopolisacárido tóxico. Esta endotoxina probablemente contribuye a la irritación de la pared intestinal.

CUADRO 15-4 Especies patógenas de *Shigella*

Designación presente	Grupo y tipo	Manitol	Ornitina descarboxilasa
Shigella dysenteriae	A	–	–
Shigella flexneri	B	+	–
Shigella boydii	C	+	–
Shigella sonnei	D	+	+

B. Exotoxina de *Shigella dysenteriae*

S. dysenteriae de tipo 1 (bacilo de Shiga) produce una exotoxina termolábil que afecta tanto al intestino como al sistema nervioso central. La exotoxina es una proteína antigénica (estimula la producción de antitoxinas) y letal para los animales de experimentación. Al actuar como una enterotoxina, produce diarrea lo mismo que la toxina similar a Shiga de *E. coli,* tal vez por el mismo mecanismo. En los seres humanos, la exotoxina también inhibe la absorción de glúcidos y aminoácidos en el intestino delgado. Al actuar como una "neurotoxina", este material puede contribuir a la gravedad extrema y carácter letal de las infecciones por *S. dysenteriae* y a las reacciones del sistema nervioso central que se observan en ella (p. ej., meningismo, coma). Los pacientes con infecciones por *Shigella flexneri* o *Shigella sonnei* presentan antitoxina que neutraliza la exotoxina de *S. dysenteriae in vitro.* La actividad tóxica es diferente a las propiedades invasivas de shigela en la disentería. Las dos pueden tener una acción sucesiva, la toxina produce una diarrea voluminosa no sanguinolenta inicial y la invasión del intestino delgado da por resultado una disentería tardía con sangre y pus en las heces.

Manifestaciones clínicas

Tras un periodo de incubación breve (uno a dos días) hay instauración súbita de dolor abdominal, fiebre y diarrea líquida. La diarrea se atribuye a una exotoxina que tiene acción en el intestino delgado (véase antes). Más o menos un día después, a medida que la infección afecta al íleon y al colon, aumenta el número de deposiciones; son menos líquidas pero a menudo contienen moco y sangre. Cada evacuación se acompaña de pujo y tenesmo (espasmos rectales), con dolor abdominal bajo consiguiente. En más de la mitad de los casos de adultos, la fiebre y la diarrea ceden en forma espontánea en un lapso de dos a cinco días. Sin embargo, en los niños y los ancianos, la pérdida de agua y electrólitos puede desencadenar deshidratación, acidosis e incluso la muerte. La enfermedad causada por *S. dysenteriae* puede ser muy grave.

Con el restablecimiento, la mayoría de las personas eliminan bacilos de la disentería por un breve periodo, pero algunos se mantienen como portadores intestinales crónicos y pueden tener ataques recidivantes de la enfermedad. Tras el restablecimiento de la infección, la mayoría de las personas presenta anticuerpos circulantes contra shigelas, pero no las protegen contra la reinfección.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras comprenden heces en fresco, muestras de moco y exudados rectales para cultivo. En el examen microscópico suele observarse un gran número de leucocitos fecales y algunos eritrocitos. Las muestras de suero, si es conveniente, se deben tomar a un intervalo de 10 días para demostrar elevación de los títulos de anticuerpos aglutinantes.

B. Cultivo

Los materiales se aplican en estrías de medios diferenciadores (p. ej., agar de MacConkey o EMB) y en medios selectivos (agar entérico de Hektoen o agar *Salmonella-Shigella),* que suprimen otras Enterobacteriaceae y microorganismos grampositivos. Las colonias incoloras (lactosa-negativas) se inoculan en agar hierro y glúcidos triple. Los microorganismos que no producen H_2S, que producen ácido pero no gas en el extremo y una inclinación alcalina en medio de agar hierro y glúcidos triples y que no son móviles deben ser objeto de una aglutinación en el portaobjetos con antisueros específicos contra *Shigella*.

C. Serología

Las personas normales a menudo tienen aglutinina contra varias especies de *Shigella.* Sin embargo, las determinaciones seriales de títulos de anticuerpo pueden mostrar una elevación del anticuerpo específico. No se realiza diagnóstico serológico en las infecciones por *Shigella.*

Inmunidad

La infección va seguida de una respuesta de anticuerpos de tipo específico. La inyección de las shigelas muertas estimula la producción de anticuerpos en suero pero no logra proteger al ser humano contra la infección. Los anticuerpos de IgA en el intestino son importantes para limitar la reinfección. Éstos pueden ser estimulados por cepas de microorganismos vivos atenuados que se administran por vía oral como vacunas experimentales. Los anticuerpos séricos para los antígenos somáticos de *Shigella* son IgM.

Tratamiento

Ciprofloxacina, ampicilina, doxiciclina y trimetoprim-sulfametoxazol suelen ser muy inhibidores de las cepas de *Shigella* y pueden suprimir los ataques clínicos agudos de la disentería y abreviar la duración de los síntomas. Es posible que no erradiquen los microorganismos del intestino. La resistencia a múltiples fármacos puede transmitirse por plásmidos y son frecuentes las infecciones resistentes al tratamiento. Muchos casos ceden de manera espontánea. Se deben evitar los opiáceos en la disentería por *Shigella.*

Epidemiología, prevención y control

Las shigelas son transmitidas por los alimentos, los dedos, las heces y las moscas ("*food*, *fingers*, *feces and flies*") de persona a persona. La mayor parte de los casos de infección por shigela se presenta en niños menores de 10 años de edad. La shigelosis se ha convertido en un problema importante en las guarderías en Estados Unidos. *S. dysenteriae* puede propagarse ampliamente. Se ha intentado quimioprofilaxis masiva por periodos limitados (p. ej., en personal militar), pero las cepas resistentes de shigelas tienden a surgir con rapidez. Puesto que los seres humanos son el principal hospedador reconocido de las shigelas patógenas, los esfuerzos de control deben dirigirse a eliminar los microorganismos de este reservorio mediante: 1) control sanitario del agua, alimentos y leche; eliminación del agua residual; y control de las moscas; 2) aislamiento de los pacientes y desinfección de las excretas; 3) detección de los casos asintomáticos y portadores, sobre todo personas que manejan alimentos, y 4) tratamiento antimicrobiano de los individuos infectados.

EL GRUPO *SALMONELLA-ARIZONA*

Las salmonelas suelen ser patógenas en el ser humano o en los animales cuando se adquieren por la vía oral. Son transmitidas

de los animales y los productos animales al ser humano, donde producen enteritis, infección sistémica y fiebre entérica.

Morfología e identificación

Las salmonelas tienen una longitud variable. La mayor parte de las cepas son móviles con flagelos peritricosos; se multiplican fácilmente en medios simples, pero casi nunca fermentan lactosa ni sacarosa. Forman ácido y a veces gas a partir de glucosa y manosa. Suelen producir H_2S. Sobreviven al congelamiento en agua por periodos prolongados. Las salmonelas son resistentes a determinadas sustancias químicas (p. ej., verde brillante, tetrationato de sodio, desoxicolato de sodio) que inhiben otras bacterias entéricas; estos compuestos son, por tanto, útiles para incluirlos en medios para aislar salmonelas de las heces.

Clasificación

La clasificación de las salmonelas es compleja porque los microorganismos son un continuo más que una especie definida. Los miembros del género *Salmonella* fueron clasificados originalmente con base en la epidemiología, la gama de hospedadores, las reacciones bioquímicas y las estructuras de los antígenos O, H y Vi (cuando están presentes). Los nombres (p. ej., *Salmonella typhi, Salmonella typhimurium*) fueron escritos como si fuesen género y especie; esta forma de la nomenclatura permanece generalizada pero se utiliza en forma incorrecta. Los estudios de hibridación de DNA-DNA han demostrado que hay siete grupos evolutivos. En la actualidad, el género *Salmonella* se divide en dos especies, cada una de las cuales contiene múltiples subespecies y serotipos. Las dos especies son *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori* (antiguamente subespecie V). *Salmonella enterica* contiene cinco subespecies: subespecie *enterica* (subespecie I); subespecie *salamae* (subespecie II); subespecie *arizonae* (subespecie IIIa); subespecie *diarizonae* (subespecie IIIb); subespecie *houtenae* (subespecie IV) y subespecie *indica* (subespecie VI). Casi todas las infecciones de seres humanos son causadas por las cepas de la subespecie I, que se designa como *Salmonella enterica* subespecie *enterica.* Pocas veces las infecciones humanas son causadas por las subespecies IIIa y IIIb o las otras subespecies que suelen encontrarse en animales de sangre fría. A menudo estas infecciones se relacionan con mascotas exóticas, como los reptiles. Parece probable que la nomenclatura ampliamente aceptada para la clasificación será la siguiente: *S. enterica* subespecie *enterica* serotipo *Typhimurium,* que puede abreviarse a *Salmonella* Typhimurium con el nombre del género en cursivas y el nombre del serotipo en tipo romano. Los laboratorios de referencia nacionales e internacionales pueden utilizar las fórmulas antigénicas que siguen al nombre de las subespecies porque imparten información más precisa sobre las cepas (cuadro 15-4).

Hay más de 2 500 serotipos de salmonelas, incluidos más de 1 400 en el grupo de hibridación de DNA I que puede infectar al ser humano. Cuatro serotipos de salmonela que producen fiebre entérica pueden identificarse en el laboratorio clínico mediante análisis bioquímicos y serológicos. Estos serotipos deben identificarse en forma sistemática debido a su importancia clínica. Son los siguientes: *Salmonella* Paratyphi A (serogrupo A), *Salmonella* Paratyphi B (serogrupo B), *Salmonella* Choleraesuis (serogrupo C1) y *Salmonella* Typhi (serogrupo D). La *Salmonella* serotipos Enteritidis y Typhimurium son los dos serotipos más frecuentes notificados en Estados Unidos. Las más de otras 1 400 salmonelas que se aíslan en los laboratorios clínicos se seroagrupan por sus antígenos o en los serogrupos A, B, C_1, C_2, D y E; algunos no son tipificables con esta serie de antisueros. Las cepas son luego remitidas a los laboratorios de referencia para la identificación serológica definitiva. Esto permite a las autoridades de salud pública vigilar y evaluar la epidemiología de las infecciones por *Salmonella* en cada estado y en todo el país.

Variación

Los microorganismos pueden perder los antígenos H y volverse no móviles. La pérdida del antígeno O conlleva un cambio de la forma de colonia lisa a la rugosa. El antígeno Vi puede perderse en forma parcial o completa. Los antígenos pueden adquirirse (o perderse) durante el proceso de transducción.

Patogenia y manifestaciones clínicas

Salmonella Typhi, *Salmonella* Choleraesuis y tal vez *Salmonella* Paratyphi A y *Salmonella* Paratyphi B son infecciosas principalmente para el ser humano y la infección por estos microorganismos implica la adquisición de una fuente humana. Sin embargo, la mayor parte de las salmonelas son principalmente patógenas en los animales que constituyen el reservorio para la infección humana: pollos, cerdos, roedores, ganado vacuno, mascotas (desde tortugas hasta papagayos) y muchos otros.

Los microorganismos casi siempre entran a través de la vía oral, por lo general con alimentos o bebidas contaminados. La dosis infecciosa media para producir infección manifiesta o asintomática en el ser humano es 10^5 a 10^8 salmonelas (pero tal vez un mínimo de 10^3 microorganismos de la especie *Salmonella typhi*). Entre los factores relacionados con el hospedador que contribuyen a la resistencia a la infección por *Salmonella* están la acidez gástrica, la microflora intestinal normal y la inmunidad intestinal local (véase adelante).

Las salmonelas producen tres tipos de enfermedad en el ser humano, pero son frecuentes las formas mixtas (cuadro 15-5).

A. Las "fiebres entéricas" (fiebre tifoidea)

Este síndrome es producido sólo por algunas de las salmonelas, de las cuales *Salmonella* Typhi (fiebre tifoidea) es la más importante. Las salmonelas ingeridas llegan al intestino delgado, desde el cual entran en los linfáticos y luego a la circulación sanguínea. Son transportadas por la sangre a muchos órganos, incluido el intestino. Los microorganismos se multiplican en el tejido linfoide intestinal y son excretados en las heces.

Tras un periodo de incubación de 10 a 14 días, se presenta fiebre, malestar, cefalea, estreñimiento, bradicardia y mialgia. La fiebre se eleva hasta alcanzar una meseta alta y se presenta esplenomegalia y hepatomegalia. Las manchas de color de rosa, por lo general en la piel de la pared abdominal o del tórax se presentan brevemente en casos esporádicos. Las concentraciones de leucocitos son normales o bajas. En la época previa a los antibióticos, las principales complicaciones de la fiebre entérica eran hemorragia intestinal y perforación y la tasa de mortalidad era 10 a 15%. El tratamiento con antibióticos ha disminuido la tasa de mortalidad a menos de 1%.

CUADRO 15-5 Enfermedades clínicas producidas por salmonelas

	Fiebres entéricas	Septicemias	Enterocolitis
Periodo de incubación	Siete a 20 días	Variable	8-48 h
Inicio	Insidioso	Brusco	Brusco
Fiebre	Gradual, luego una meseta alta, con estado “tifoideo”	Aumento rápido y luego espigas en temperatura “séptica”	Por lo general lenta
Duración de la enfermedad	Varias semanas	Variable	Dos a cinco días
Síntomas digestivos	A menudo estreñimiento inicial; más tarde, diarrea sanguinolenta	A menudo ninguno	Náusea, vómito, diarrea al principio
Hemocultivos	Positivos durante la primera y la segunda semanas	Positivo durante la fiebre alta	Negativos
Coprocultivos	Positivos a partir de la segunda semana; negativos en etapas más iniciales de la enfermedad	Pocas veces positivo	Positivos poco después del inicio

Las principales lesiones son hiperplasia y necrosis del tejido linfoide (p. ej., placas de Peyer, hepatitis, necrosis focal del hígado e inflamación de la vesícula biliar, el periostio, los pulmones y otros órganos.

B. Bacteriemia con lesiones focales

Por lo común se relaciona con *S. choleraesuis* pero puede causarla cualquier serotipo de salmonela. Después de la infección oral, hay una invasión inicial de la circulación sanguínea (con posibles lesiones focales en pulmones, huesos, meninges, etc.), pero no suelen presentarse las manifestaciones intestinales. Los hemocultivos son positivos.

C. Enterocolitis

Ésta es la manifestación más frecuente de la infección por salmonela. En Estados Unidos, destacan *Salmonella* Typhimurium y *Salmonella* Enteritidis, pero las enterocolitis son causadas por cualquiera de los más de 1 400 serotipos de salmonelas del grupo I. Después de 8 a 48 h de la ingestión de las salmonelas se presentan náusea, cefalea, vómito y diarrea abundante, con escasos leucocitos en las heces. Es frecuente la febrícula, pero el episodio suele resolverse en un lapso de dos a tres días. Se presentan las lesiones inflamatorias del intestino delgado y colon. La bacteriemia es poco común (2 a 4%) excepto en las personas inmunodeficientes. Los hemocultivos suelen ser negativos, pero los coprocultivos son positivos para salmonela y pueden mantenerse positivos por varias semanas después del restablecimiento clínico.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

La sangre para cultivo se debe obtener varias ocasiones. En casos de fiebre entérica y septicemia, los hemocultivos suelen ser positivos en la primera semana de la enfermedad. Los cultivos de médula ósea son útiles. Los cultivos de orina pueden ser positivos después de la segunda semana.

Las muestras de las heces también se deben obtener en forma repetida. En la fiebre entérica, las heces producen resultados positivos a partir de la segunda o la tercera semana; en la enterocolitis, durante la primera semana.

Un cultivo positivo de secreción duodenal establece la presencia de salmonela en las vías biliares de los portadores.

B. Métodos bacteriológicos para aislamiento de salmonelas

1. Cultivos en medio diferencial. El medio de EMB, MacConkey o desoxicolato permite la detección rápida de microorganismos que no fermentan lactosa (no sólo salmonelas y shigelas sino también *Proteus, Serratia, Pseudomonas,* etc.). Los microorganismos grampositivos son inhibidos en cierto grado. El medio de sulfito de bismuto permite la detección rápida de salmonelas que forman colonias negras a causa de la producción de H_2S. Muchas salmonelas producen H_2S.

2. Cultivos en medio selectivo. La muestra se coloca en placa de agar salmonela-shigela (SS), agar entérico Hektoen, XLD o agar desoxicolato-citrato, que favorecen la multiplicación de las salmonelas y las shigelas más que de otras Enterobacteriaceae.

3. Cultivos de enriquecimiento. La muestra (por lo general las heces) también se coloca en caldo de selenita F o de tetrationato, los cuales inhiben la replicación de las bacterias intestinales normales y permiten la multiplicación de las salmonelas. Después de la incubación durante uno a dos días, éste se coloca en placas con medios diferenciales y selectivos.

4. Identificación final. Las colonias sospechosas de medios sólidos se identifican por los tipos de reacción bioquímica (cuadro 15-1) y las pruebas de aglutinación en portaobjetos con sueros específicos.

C. Métodos serológicos

Se utilizan técnicas serológicas para identificar cultivos desconocidos con sueros conocidos (véase adelante) y también se puede utilizar para determinar títulos de anticuerpo en pacientes con enfermedades desconocidas, aunque las últimas no son muy útiles para el diagnóstico de las infecciones por *Salmonella.*

1. Prueba de aglutinación. En esta prueba, los sueros conocidos y el cultivo desconocido se mezclan en un portaobjetos. El apiñamiento, cuando ocurre, se puede observar a los pocos minutos. Esta prueba es muy útil para la identificación preliminar rápida de los cultivos. Se dispone de estuches comerciales para aglutinar y determinar el serogrupo de las salmonelas mediante sus antígenos O: A, B, C_1, C_2, D y E.

2. Prueba de aglutinación con dilución en tubo (prueba de Widal). Las aglutininas séricas aumentan de manera brusca durante la segunda y la tercera semanas de la infección por *Salmonella* Typhi. La prueba de Widal para detectar estos anticuerpos contra los antígenos O y H se ha utilizado por decenios. Se necesitan por lo menos dos muestras de suero, obtenidas a intervalos de siete a 10 días, para demostrar una elevación del título de anticuerpo. Las diluciones seriales de sueros desconocidos se evalúan contra antígenos de salmonelas representativas. Ocurren resultados falsos positivos y falsos negativos. Los criterios de interpretación cuando se evalúan muestras de suero individuales son variables, pero se considera positivo un título contra el antígeno O >1:320 y contra el antígeno H >1:640. En algunos portadores hay títulos elevados de anticuerpos contra el antígeno Vi. Las alternativas a la prueba de Widal comprenden los métodos colorimétrico rápido y de inmunoanálisis enzimático. Hay informes contradictorios en la bibliografía en torno a la superioridad de estos métodos con respecto a la prueba de Widal. No se puede confiar en los resultados de las pruebas serológicas para la infección por *Salmonella* para establecer un diagnóstico definitivo de fiebre tifoidea y se utilizan más a menudo en zonas de escasos recursos en el mundo donde no es fácil llevar a cabo los hemocultivos.

Inmunidad

Las infecciones por *Salmonella* Typhi y *Salmonella* Paratyphi suelen conferir un determinado grado de inmunidad. Puede haber reinfección pero a menudo es más leve que la primera infección. Los anticuerpos circulantes contra antígenos O y Vi están relacionados con la resistencia a la infección y la enfermedad. Sin embargo, pueden presentarse recaídas en un lapso de dos a tres semanas después del restablecimiento pese a los anticuerpos. Los anticuerpos IgA secretores pueden evitar la adherencia de las salmonelas al epitelio intestinal. Las personas con hemoglobina S/S (anemia drepanocítica) son muy susceptibles a las infecciones por *Salmonella,* sobre todo a la osteomielitis. Las personas con hemoglobina A/S (rasgo drepanocítico) son más susceptibles que las personas sanas (aquellas con la hemoglobina A/A).

Tratamiento

Aunque en la fiebre entérica y la bacteriemia con lesiones focales es necesario el tratamiento antimicrobiano, en la mayor parte de los casos de enterocolitis no lo es. En los recién nacidos es importante el tratamiento antimicrobiano de la enteritis por *Salmonella*. En la enterocolitis, los síntomas y la excreción de las salmonelas pueden ser prolongados por el tratamiento antimicrobiano. En la diarrea grave, es esencial la reposición de líquidos y electrólitos.

El tratamiento antimicrobiano de las infecciones por *Salmonella* invasiva es con ampicilina, trimetoprim-sulfametoxazol o una cefalosporina de tercera generación. La resistencia a múltiples fármacos transmitida genéticamente por plásmidos en las bacterias entéricas constituye un problema en las infecciones por *Salmonella.* Las pruebas de susceptibilidad son un auxiliar importante para seleccionar un antibiótico apropiado.

En la mayoría de los portadores, los microorganismos persisten en la vesícula biliar (sobre todo si hay cálculos biliares presentes) y en las vías biliares. Algunos portadores crónicos se han aliviado con ampicilina sola, pero casi en todos los casos se debe combinar la colecistectomía con el tratamiento farmacológico.

Epidemiología

Las heces de las personas que tienen una enfermedad asintomática no sospechada o que son portadoras constituyen una fuente más importante de contaminación que los casos clínicos declarados que rápidamente se aíslan, por ejemplo, cuando los portadores que trabajan manejando alimentos "eliminan" los microorganismos. Muchos animales, como el ganado vacuno, los roedores y las aves de corral, tienen una infección natural con diversas salmonelas y tienen las bacterias en sus tejidos (carne), excreta o huevos. Se le ha dado mucha publicidad a la gran frecuencia de salmonelas en los pollos que se preparan en el comercio. La frecuencia de fiebre tifoidea ha disminuido, pero la de otras infecciones por *Salmonella* ha aumentado notablemente en Estados Unidos. El problema probablemente es agravado por el uso generalizado de alimentos de animales que contienen antimicrobianos que favorecen la proliferación de las salmonelas resistentes a los fármacos y su transmisión potencial al ser humano.

A. Portadores

Después de la infección manifiesta o asintomática, algunas personas siguen albergando salmonelas en sus tejidos por periodos variables (portadores convalecientes o portadores permanentes sanos). De las personas que sobreviven a la fiebre tifoidea 3% se vuelven portadores permanentes y albergan los microorganismos en la vesícula biliar, las vías biliares o, pocas veces, el intestino o las vías urinarias.

B. Fuentes de infección

Las fuentes de infección son alimento y bebidas que están contaminados con salmonelas. Las siguientes fuentes son importantes:

1. Agua. La contaminación con heces a menudo produce epidemias explosivas.

2. Leche y otros productos lácteos (helado de crema, queso, mostaza). La contaminación con las heces y la pasteurización inadecuada o el manejo inadecuado. Algunos brotes epidémicos son rastreables a la fuente de suministro.

3. Mariscos. Por el agua contaminada.

4. Huevos desecados o congelados. De pollos infectados o contaminados durante el procesamiento.

5. Carnes y sus derivados. De animales infectados (pollo) o contaminación con heces por roedores o seres humanos.

6. Drogas "recreativas". Mariguana y otras drogas.

7. Colorantes de animales. Colorantes (p. ej., carmín) que se utilizan en fármacos, alimentos y cosméticos.

8. Mascotas domésticas. Tortugas, perros, gatos, etcétera.

Prevención y control

Se deben poner en práctica medidas sanitarias para prevenir la contaminación de los alimentos y el agua por los roedores u otros animales que excretan salmonelas. Se debe cocer minuciosamente pollo, carnes y huevos infectados. No se debe permitir a los portadores que trabajen manejando alimentos y deben observar precauciones higiénicas estrictas.

Actualmente se dispone de dos vacunas contra la tifoidea en Estados Unidos: una vacuna de microorganismos vivos atenuados que se administra por vía oral y una vacuna de polisacárido capsular Vi para uso intramuscular. Se recomienda la vacunación en viajeros a zonas endémicas, sobre todo si el viajero visita zonas rurales o pequeños poblados donde son escasas las opciones de alimento. Las dos vacunas tienen una eficacia de 50 a 80%. El tiempo necesario para la vacunación primaria y los límites de edad para cada vacuna varía y las personas deben consultar la página WEB de los DCD u obtener asesoría de una clínica para viajeros en relación con la última información disponible sobre vacunas.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un estudiante universitario de 20 años de edad acude a la clínica para estudiantes a causa de disuria, frecuencia y sensación de urgencia al orinar de 24 h de evolución; en fecha reciente comenzó a tener actividad sexual. En el análisis de orina se observan muchos polimorfonucleares. El microorganismo más factible de ser la causa de estos síntomas y signos es
   (A) *Staphylococcus aureus*
   (B) *Streptococcus agalactiae*
   (C) *Gardnerella vaginalis*
   (D) Bacterias del género *Lactobacillus*
   (E) *Escherichia coli*
2. Una mujer de 27 años de edad es hospitalizada por presentar fiebre, con aumento progresivo de anorexia, cefalea, debilidad y alteraciones del estado mental de dos días de evolución. Trabaja en una aerolínea como azafata que vuela entre el subcontinente indio y otros lugares del sureste de Asia y la costa occidental de Estados Unidos. Diez días antes de su ingreso tuvo diarrea que persistió durante 36 h. Ha presentado estreñimiento por lo menos tres días. Su temperatura es de 39°C, su frecuencia cardiaca de 68 por minuto, su presión arterial de 120/80 mmHg y su frecuencia respiratoria de 18 por minuto. Está consciente de quién es y dónde se encuentra pero desconoce la fecha. Está picando en la ropa de cama. Se observan manchas de color de rosa en el tronco. La exploración física por lo demás es normal. Se llevan a cabo hemocultivos y se le instala una venoclisis. La causa más probable de su enfermedad es
   (A) *Escherichia coli* enterotoxígena (ETEC)
   (B) *Shigella soneii*
   (C) *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serotipo Thphimurium (*Salmonella* Typhimurium)
   (D) *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serotipo Typhi (*Salmonella* Typhi)
   (E) *Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC)
3. Los hemocultivos de la paciente de la pregunta 2 producen un bacilo gramnegativo que no fermenta en lactosa. ¿Cuál de los siguientes es un probable componente de este microorganismo?
   (A) Antígeno O157, antígeno H7 (O157:H7)
   (B) Antígeno Vi (cápsula; antígeno de virulencia)
   (C) Antígeno O 139 (O139)
   (D) Ureasa
   (E) K1 (de tipo capsular 1)
4. Una mujer de 37 años de edad con un antecedente de infecciones urinarias acude al servicio de urgencias con una sensación urente al orinar así como polaquiuria y sensación de urgencia para orinar. Dice que su orina huele a amoniaco. La causa de su infección urinaria posiblemente es
   (A) *Enterobacter aerogenes*
   (B) *Proteus mirabilis*
   (C) *Citrobacter freundii*
   (D) *Escherichia coli*
   (E) *Serratia marcescens*
5. Un estudiante de 18 años de edad tiene cólicos abdominales y diarrea. Una placa de agar de MacConkey es inoculada y revela bacilos gramnegativos. Se utiliza el agar hierro con triple glúcido (TSI) para detectar las cepas de salmonelas y shigelas. Un resultado indicativo de uno de estos dos microorganismos patógenos sería
   (A) Producción de ureasa
   (B) Motilidad en el medio
   (C) Imposibilidad para fermentar lactosa y sacarosa
   (D) Fermentación de glucosa
   (E) Producción de gas en el medio del cultivo
6. Un serotipo infrecuente de *Salmonella enterica* subespecie *enterica* fue detectada por laboratorios de los departamentos de salud de estados adyacentes. Las cepas provenían todas de una región geográfica pequeña a cada lado de la frontera entre los estados, lo que indicaba una fuente común de las cepas. Todas las cepas provenían de adultos jóvenes por lo demás sanos que fumaban mariguana; la misma *Salmonella* fue aislada de una muestra de la mariguana. ¿Cuál es el método que utilizan los laboratorios para determinar que estas cepas eran las mismas?
   (A) Tipificación capsular (antígeno K)
   (B) Tipificación de antígeno O y antígeno H
   (C) Determinación de la secuencia de DNA
   (D) Determinación del tipo de fermentación en glúcidos
   (E) Determinación del tipo de reacción de la descarboxilasa
7. Un hombre diabético de 43 años tiene una úlcera en el pie de 4 cm que no cicatriza. El cultivo de la úlcera produce *Bacteroides fragilis* y un bacilo gramnegativo que prolifera en la placa de agar sangre cubriendo toda la superficie de agar después de 36 h. El bacilo gramnegativo es un miembro del género
   (A) *Escherichia*
   (B) *Enterobacter*
   (C) *Serratia*
   (D) *Salmonella*
   (E) *Proteus*
8. Un niño de cuatro años de edad de Kansas City en fecha reciente comenzó a asistir al jardín de niños; después de acudir a la escuela es llevado a su pediatra por una diarrea caracterizada por fiebre de 38.2°C, dolor abdominal bajo intenso y diarrea inicialmente líquida. A su madre le preocupa que las heces son sanguinolentas 24 h después de iniciada la enfermedad y el niño tiene aspecto muy enfermo. La madre informa que los otros dos niños que asisten a la misma guardería tuvieron diarrea en fecha reciente, uno de ellos también presentaba heces sanguinolentas. ¿Cuál de los siguientes

es el microorganismo patógeno que con mayor probabilidad produce la enfermedad en estos niños?

(A) Una cepa enterotoxígena de *Escherichia coli*
(B) *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serotipo Typhi (*Salmonella* Typhi)
(C) *Shigella sonnei*
(D) *Edwardsiella tarda*
(E) *Klebsiella oxytoca*

9. Una niña de cinco años de edad asistió a una fiesta de cumpleaños en un restaurante local de comida rápida. Casi 48 h después presentó dolor abdominal tipo cólico, febrícula y tuvo cinco accesos de deposiciones semilíquidas y sanguinolentas. Es llevada al servicio de urgencias local la siguiente noche porque la diarrea persistió y ahora tiene aspecto pálido y letárgico. Al presentarse, tiene temperatura de 38°C, está hipotensa y taquicárdica. La exploración abdominal revela hipersensibilidad dolorosa en los cuadrantes inferiores. Los análisis de laboratorio muestran una creatinina sérica de 2.0 mg/100 ml, hemoglobina de 8.0 mg/100 ml, trombocitopenia y signos de hemólisis. ¿Cuál es el microorganismo patógeno más probable que está causando la enfermedad de esta niña?

(A) *Escherichia coli* O157:H7
(B) *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serotipo Typhimurium
(C) *Escherichia coli* enteropatógena
(D) *Edwardsiella tarda*
(E) *Plesiomonas shigelloides*

10. Un hombre alcohólico sin hogar de 55 años de edad acude con neumonía multilobar grave. Es necesaria su intubación y la ventilación mecánica. Una tinción de Gram de su esputo revela múltiples leucocitos polimorfonucleares y bacilos gramnegativos que parecen tener una cápsula. El microorganismo fermenta lactosa en agar de MacConkey y es muy mucoide. Es no móvil y produce lisina descarboxilasa. ¿Cuál es el microorganismo que con mayor probabilidad está produciendo la enfermedad de este hombre?

(A) *Serratia marcescens*
(B) *Enterobacter aerogenes*
(C) *Proteus mirabilis*
(D) *Klebsiella pneumoniae*
(E) *Morganella morganii*

11. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a los antígenos O es correcta?

(A) Todas las Enterobacteriaceae poseen antígenos O idénticos
(B) Se encuentran en las cápsulas de polisacárido de las bacterias entéricas
(C) Están vinculadas en forma covalente con un centro de polisacárido
(D) No estimulan una respuesta inmunitaria en el hospedador
(E) No son importantes en la patogenia de la causa de la infección por bacterias entéricas

12. ¿Cuál de las siguientes pruebas es el método menos sensible para el diagnóstico de colitis causada por *Escherichia coli* productora de toxina shiga?

(A) Cultivo en agar de MacConkey con sorbitol
(B) Pruebas de toxina utilizando un inmunoanálisis enzimático
(C) Análisis de citotoxina de cultivo celular utilizando células de Vero
(D) Reacción en cadena de la polimerasa para la detección de los genes que codifican la toxina shiga

Respuestas

1. E	4. B	7. E	10. D
2. D	5. C	8. C	11. C
3. B	6. B	9. A	12. A

BIBLIOGRAFÍA

Abbott S: *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas,* and other Enterobacteriaceae. In: *Manual of Clinical Microbiology,* 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Donnenberg MS: Enterobacteriaceae. In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone Elsevier, 2009.

Dupont HL: *Shigella* species (bacillary dysentery). In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone Elsevier, 2009.

Farmer JJ III, Boatwright KK, Janda JM: Enterobacteriaceae: Introduction and Identification. In: *Manual of Clinical Microbiology,* 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Nataro JP, Bopp CA, Fields PI, Kaper JB, Strockbine NA: *Escherichia, Shigella,* and *Salmonella.* In: *Manual of Clinical Microbiology,* 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Pegues DA, Miller SI: *Salmonella* species, including *Salmonella typhi.* In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

CAPÍTULO

16

Pseudomonas, Acinetobacter y bacterias gramnegativas infrecuentes

Las pseudomonas y los microorganismos del género *Acinetobacter* tienen una amplia distribución en el suelo y el agua. *Pseudomonas aeruginosa* a veces coloniza al ser humano y es el principal microorganismo patógeno humano del grupo. *P. aeruginosa* es invasiva y toxígena, produce infecciones en pacientes con defensas anormales y es un microorganismo patógeno importante en los hospitales.

En este capítulo se describen las bacterias gramnegativas que pocas veces producen enfermedad en el ser humano. Algunas de estas bacterias (p. ej., cromobacterias y criseobacterias) se localizan en el suelo o en el agua y son patógenas oportunistas para el ser humano. Otras bacterias gramnegativas (p. ej., capnocitofaga, *Eikenella corrodens*, *Kingella* y *Moraxella*) forman parte de la microflora normal del ser humano y se detectan en una amplia gama de infecciones; a menudo son causas inesperadas de enfermedades.

EL GRUPO DE LAS PSEUDOMONAS

Las pseudomonas son bacilos gramnegativos, móviles y aerobios, algunos de los cuales producen pigmentos hidrosolubles. Las pseudomonas tienen una amplia distribución en el suelo, el agua, las plantas y los animales. *Pseudomonas aeruginosa* a menudo está presente en pequeñas cantidades en la microflora intestinal normal y en la piel del ser humano y es el principal microorganismo patógeno del grupo. Otras pseudomonas pocas veces producen enfermedad. La clasificación de las pseudomonas se basa en la homología de rRNA/DNA y en las características de cultivo comunes. En el cuadro 16-1 se enumeran las pseudomonas de importancia médica.

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

P. aeruginosa tiene una amplia distribución en la naturaleza y suele estar presente en medios húmedos en los hospitales. Puede colonizar al ser humano normal en quien es un saprófito. Causa enfermedades en personas con defensas anormales.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

P. aeruginosa es móvil, tiene forma de bastón, mide casi 0.6 × 2 µm (fig. 16-1). Es gramnegativo y muestra una disposición en bacterias individuales, en pares y a veces en cadenas cortas.

B. Cultivo

P. aeruginosa es un aerobio obligado que se multiplica fácilmente en muchos tipos de medios de cultivo, produciendo en ocasiones un olor dulce o parecido al de las uvas o a la tortilla de maíz. Algunas cepas producen hemólisis. *P. aeruginosa* forma colonias redondas y lisas con un color verdoso fluorescente. Suele producir el pigmento azulado no fluorescente **piocianina**, que se difunde hacia el agar. Otras especies de *Pseudomonas* no producen piocianina. Muchas cepas de *P. aeruginosa* también producen el pigmento fluorescente **pioverdina**, que le confiere un color verdoso al agar (fig. 16-2). Algunas cepas producen el pigmento rojo oscuro **piorrubina** o el pigmento negro **piomelanina**.

P. aeruginosa en un cultivo puede producir múltiples tipos de colonias (fig. 16-3). *P. aeruginosa* de diferentes tipos de colonia también tiene diferentes actividades bioquímicas y enzimáticas y diferentes tipos de susceptibilidad antimicrobiana. A veces no está claro si los tipos de colonia representan diferentes cepas de *P. aeruginosa* o si son variantes de la misma cepa. Los cultivos de pacientes con fibrosis quística (CF, *cystic fibrosis*) a

CUADRO 16-1 Clasificación de algunas de las pseudomonas de importancia médica[a]

Grupo de homología de rRNA y subgrupo	Género y especie
I Grupo fluorescente	*Pseudomonas aeruginosa*
	Pseudomonas fluorescens
	Pseudomonas putida
Grupo no fluorescente	*Pseudomonas stutzeri*
	Pseudomonas mendocina
II	*Burkholderia pseudomallei*
	Burkholderia mallei
	Burkholderia cepacia
	Ralstonia pickettii
III	Especies de *Comamonas*
	Especies de *Acidovorax*
IV	Especies de *Brevundimonas*
V	*Stenotrophomonas maltophilia*

[a]Muchas otras especies a veces se detectan en muestras clínicas o del medio ambiente.

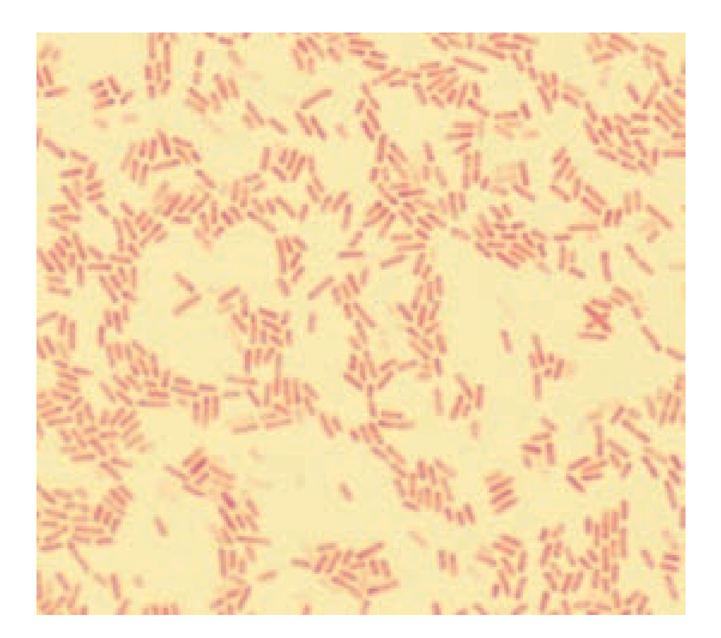


FIGURA 16-1 Tinción de Gram de *Pseudomonas aeruginosa*, que mide aproximadamente 0.6 × 2 µm. Aumento original × 1 000. (Cortesía de H. Reyes.)

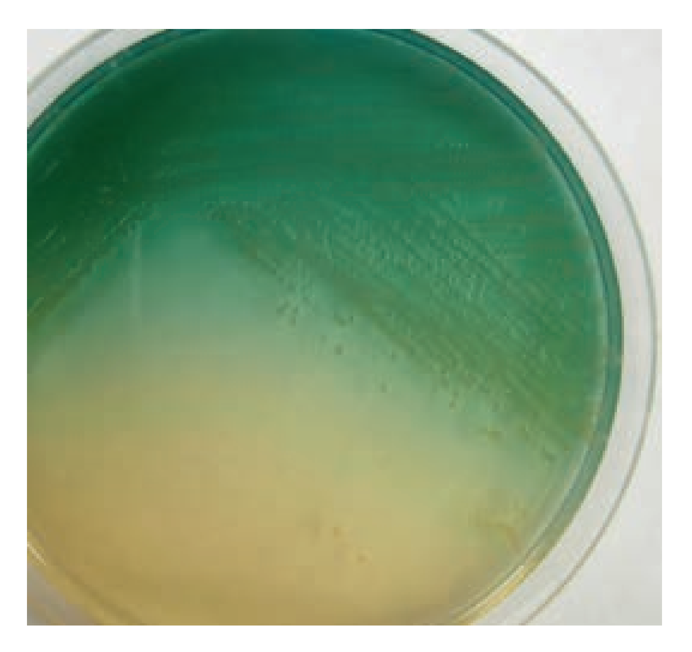


FIGURA 16-2 *Pseudomonas aeruginosa* en una placa de agar de Mueller-Hinton de 10 cm. Las colonias individuales tienen un diámetro de 3 a 4 mm. El microorganismo produce piocianina, que es azul, y pioverdina, que es verde. En conjunto, estos pigmentos producen el color verde azulado que se observa en el agar que rodea la multiplicación de pseudomonas. (Cortesía de S. Lowe.)

menudo generan microorganismos de *P. aeruginosa* que forman colonias mucoides como resultado de la producción excesiva de alginato, un exopolisacárido. En los pacientes con fibrosis quística, el exopolisacárido al parecer proporciona la matriz para que los microorganismos vivan en una biopelícula (caps. 2 y 9).

C. Características de crecimiento

P. aeruginosa se multiplica bien a una temperatura de 37 a 42°C; su crecimiento a 42°C ayuda a distinguirla de otras especies de pseudomonas en el grupo fluorescente. Es **oxidasa positiva**. No fermenta carbohidratos, pero muchas cepas oxidan glucosa. La identificación suele basarse en la morfología de la colonia, la positividad para oxidasa, la presencia de pigmentos característicos y su multiplicación a una temperatura de 42°C. Para la diferenciación de *P. aeruginosa* de otras pseudomonas basándose en la actividad bioquímica son necesarios análisis con un gran grupo de sustratos.

Estructura antigénica y toxinas

Las fimbrias se proyectan desde la superficie de la célula y favorecen la adherencia a las células epiteliales del hospedador. El exopolisacárido es la causa de las colonias mucoides que se observan en los cultivos de pacientes con fibrosis quística. El lipopolisacárido, que existe en múltiples inmunotipos, interviene en muchas de las propiedades endotóxicas del microorganismo. *P. aeruginosa* puede tipificarse por el inmunotipo de lipopolisacárido y por la susceptibilidad a la piocina (bacteriocina). La mayor parte de las cepas de *P. aeruginosa* provenientes de infecciones clínicas produce enzimas extracelulares, como elastasas, proteasas y dos hemolisinas: una fosfolipasa C termolábil y un glucolípido termoestable.

Muchas cepas de *P. aeruginosa* producen exotoxina A, la cual causa necrosis de los tejidos y es mortal en animales cuando se inyecta en forma purificada. La toxina bloquea la síntesis de proteína por un mecanismo de acción idéntico al de la toxina de la difteria, aunque las estructuras de las dos toxinas no son idénticas. Las antitoxinas para la exotoxina A se encuentran en algunos sueros humanos, incluidos los de los pacientes que se han restablecido de infecciones graves por *P. aeruginosa.*

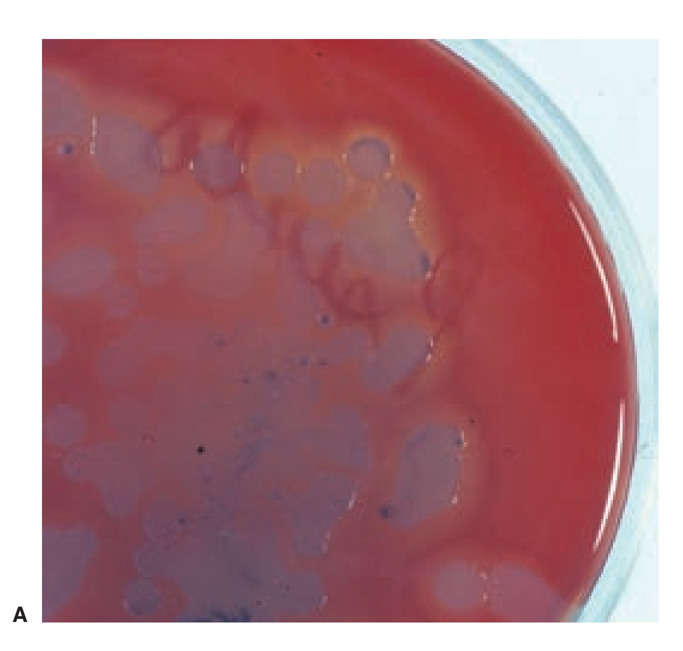
Patogenia

P. aeruginosa es patógena sólo cuando se introduce en zonas desprovistas de defensas normales, por ejemplo, cuando hay solución de la continuidad de mucosas y de la piel por lesión directa del tejido; cuando se utilizan catéteres intravenosos o sondas urinarias; o cuando hay neutropenia, como en el caso de quimioterapia antineoplásica. La bacteria se adhiere a las mucosas o la piel y las coloniza, produce invasión local y enfermedad sistémica. Estos procesos son favorecidos por las fimbrias, las enzimas y las toxinas antes descritas. El lipopolisacárido desempeña un papel directo en la producción de fiebre, choque, oliguria, leucocitosis y leucopenia, coagulación intravascular diseminada y síndrome de dificultad respiratoria del adulto.

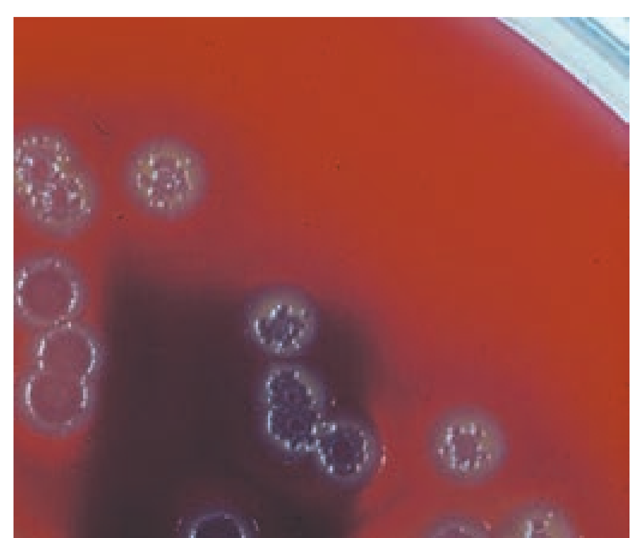
P. aeruginosa y otras pseudomonas son resistentes a muchos antimicrobianos y por tanto se vuelven dominantes e importantes cuando se suprimen las bacterias más susceptibles de la microflora normal.

Manifestaciones clínicas

P. aeruginosa produce infección de heridas y quemaduras y origina pus de color verde azuloso; meningitis, cuando se introduce por punción lumbar; e infecciones urinarias cuando se introduce por catéteres e instrumentos o en soluciones de irrigación. La afectación del sistema respiratorio, sobre todo por respiradores contaminados, produce neumonía necrosante.



A



B

FIGURA 16-3 Variación en la morfología de la colonia de *Pseudomonas aeruginosa*. **A:** Colonias de color gris verdoso de 6 a 8 mm de diámetro en una placa de agar sangre de 10 cm; la sangre en el agar alrededor de las colonias muestra hemólisis. **B:** Colonias secas de tono plateado en una placa con agar sangre similar; no se observa hemólisis (la sombra oscura en la parte inferior de la imagen se debe a una etiqueta colocada en la parte posterior de la caja de Petri.) (Cortesía de H. Reyes.)

La bacteria a menudo se encuentra en la otitis externa leve en nadadores. Puede causar otitis externa invasiva (maligna) en pacientes diabéticos. La infección ocular, que puede desencadenar la destrucción rápida del ojo, es más frecuente después de lesiones o procedimientos quirúrgicos. En los lactantes o en las personas debilitadas, *P. aeruginosa* puede invadir la circulación sanguínea y producir sepsis mortal. Esto suele ocurrir en los pacientes con leucemia o linfoma que han recibido antineoplásicos o radioterapia y en los pacientes con quemaduras graves. En la mayor parte de las infecciones por *P. aeruginosa*, los signos y síntomas son inespecíficos y están relacionados con el órgano afectado. A veces se puede detectar verdoglobina (un producto de degradación de la hemoglobina) o pigmento fluorescente en heridas, quemaduras u orina mediante fluorescencia ultravioleta. La necrosis hemorrágica de la piel suele presentarse en los casos de septicemia por *P. aeruginosa*; las lesiones, llamadas **ectima gangrenoso**, están rodeadas por eritema y a menudo no contienen pus. Se puede ver *P. aeruginosa* en muestras de lesiones por ectima teñidas con tinción de Gram y los cultivos son positivos. El ectima gangrenoso es infrecuente en la bacteriemia por otros microorganismos diferentes a *P. aeruginosa.*

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Se deben obtener muestras de lesiones de la piel, pus, orina, sangre, líquido cefalorraquídeo, esputo y otras secreciones, según lo determine el tipo de infección.

B. Frotis

Suelen observarse bacilos gramnegativos en los frotis. No hay características morfológicas específicas que distingan a las pseudomonas en muestras de bacilos intestinales u otros gramnegativos.

C. Cultivo

Las muestras se colocan en placas con agar sangre y suelen utilizarse medios diferenciales para el cultivo de bacilos intestinales gramnegativos. Las pseudomonas se multiplican fácilmente en casi todos estos medios pero se multiplican con más lentitud que los microorganismos intestinales. *P. aeruginosa* no fermenta lactosa y se distingue fácilmente de las bacterias fermentadoras de lactosa. El cultivo es la prueba específica para el diagnóstico de infección por *P. aeruginosa.*

Tratamiento

Las infecciones clínicamente importantes por *P. aeruginosa* no deben tratarse con un solo fármaco, pues la tasa de éxito es baja con tal tratamiento y las bacterias pueden presentar rápidamente resistencia cuando se utilizan fármacos individuales. Se utiliza una penicilina como la piperacilina activa contra *P. aeruginosa* en combinación con un aminoglucósido, por lo general tobramicina. Otros fármacos que tienen actividad contra *P. aeruginosa* son aztreonam, carbapenémicos como el imipenem o el meropenem y las quinolonas más recientes, incluida ciprofloxacina. De las cefalosporinas más recientes, la ceftazidima y la cefoperazona tienen actividad contra *P. aeruginosa*; se utiliza ceftazidima con un aminoglucósido en el tratamiento primario de las infecciones por *P. aeruginosa.* Los patrones de susceptibilidad de *P. aeruginosa* varían según las diferentes zonas geográficas y se deben realizar pruebas de susceptibilidad como un complemento para seleccionar el tratamiento antimicrobiano.

Epidemiología y control

P. aeruginosa es principalmente un microorganismo patógeno intrahospitalario y los métodos de control de la infección son similares a los de otros patógenos intrahospitalarios. Puesto que las pseudomonas se reproducen en medios húmedos, debe prestarse especial atención a los lavabos, calentadores de agua, las regaderas, las tinas de agua caliente y otras zonas húmedas. Para

fines epidemiológicos, las cepas se pueden tipificar utilizando técnicas de tipificación molecular.

BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI

B. pseudomallei es un bacilo pequeño, móvil, oxidasa positivo, aerobio y gramnegativo. Se multiplica en medios bacteriológicos usuales, formando colonias que varían desde mucoides y lisas hasta irregulares y de color crema a naranja. Se multiplica a una temperatura de 42°C y oxida glucosa, lactosa y otros carbohidratos. *B. pseudomallei* produce **melioidosis** en el ser humano, principalmente en el sureste de Asia y en el norte de Australia. El microorganismo es un saprófito natural, que se ha cultivado en suelo, agua fresca, arrozales y productos vegetales. La infección humana probablemente se origina en estas fuentes por la contaminación de abrasiones en la piel y posiblemente por la ingestión o la inhalación. La infección epizoótica por *B. pseudomallei* se presenta en ovejas, cabras, cerdos, caballos y otros animales, aunque los animales no parecen ser un reservorio primario para el microorganismo.

La melioidosis puede manifestarse como una infección aguda, subaguda o crónica. El periodo de incubación puede ser tan corto como dos a tres días, pero también ocurren periodos de latencia de meses a años. Es posible encontrar una infección purulenta circunscrita en el lugar de la inoculación donde hay una herida de la piel. Esta infección circunscrita puede desencadenar una forma de infección septicémica aguda que afecta a muchos órganos. Los signos y síntomas dependen de los principales sitios afectados. La forma más frecuente de melioidosis es la infección pulmonar, que puede ser una neumonitis primaria (*B. pseudomallei* transmitida a través de las vías respiratorias altas o de la nasofaringe) o después de una infección purulenta circunscrita y bacteriemia. El paciente puede tener fiebre y leucocitosis, con consolidación de los lóbulos superiores. Después, el paciente se torna afebril mientras se forman cavidades en el lóbulo superior, que dan un aspecto similar al de la tuberculosis en las radiografías torácicas. Algunos pacientes presentan infección purulenta crónica con abscesos en piel, cerebro, pulmón, miocardio, hígado, hueso y otras zonas. Los pacientes con infecciones purulentas crónicas pueden estar afebriles y manifestar una enfermedad indolente. La infección latente a veces se reactiva a consecuencia de la inmunodeficiencia.

Se debe tomar en cuenta el diagnóstico de melioidosis en un paciente proveniente de una zona endémica que tiene una enfermedad fulminante del lóbulo pulmonar superior o enfermedad sistémica inexplicable. La tinción de Gram de una muestra apropiada demostrará los bacilos gramnegativos pequeños; la tinción bipolar (aspecto de alfiler de seguridad) se observa en la tinción de Wright o en la tinción de azul de metileno. Un cultivo positivo es diagnóstico. Una prueba serológica positiva tiene utilidad diagnóstica y constituye un signo de infección previa.

La melioidosis tiene una elevada tasa de mortalidad cuando no se trata. En ocasiones es necesario el drenaje quirúrgico de la infección circunscrita. *B. pseudomallei* por lo general es susceptible a ceftazidima, imipenem, meropenem y amoxicilina con ácido clavulánico (también ceftriaxona y cefotaxima). *B. pseudomallei* suele ser resistente a penicilina, ampicilina, cefalosporinas de primera y segunda generaciones y gentamicina y tobramicina. Dependiendo de las circunstancias clínicas, el tratamiento intensivo inicial debe administrarse por un mínimo de 10 a 14 días, con ceftazidima, imipenem o meropenem; se debe evaluar trimetoprim-sulfametoxazol en los pacientes con alergia grave a los lactámicos β. El tratamiento de erradicación con trimetoprim-sulfametoxazol o doxiciclina debe administrarse después del tratamiento inicial intensivo y continuarse durante un mínimo de tres meses. La infección recidivante debido a la falta de erradicación puede deberse a varios motivos, pero el más importante es la falta de cumplimiento del tratamiento de erradicación a largo plazo.

BURKHOLDERIA MALLEI

B. mallei es un bacilo pequeño, inmóvil, no pigmentado, aerobio y gramnegativo que se multiplica fácilmente en casi todos los medios bacteriológicos. Produce el **muermo**, una enfermedad de caballos, mulas y asnos que es transmisible al ser humano. En los caballos, la enfermedad tiene una afectación pulmonar prominente, lesiones ulcerosas subcutáneas y engrosamiento linfático con nódulos; también se presenta enfermedad sistémica. La infección humana, que puede ser mortal, suele comenzar como una úlcera en la piel o las mucosas que se acompañan de linfangitis y septicemia. La inhalación de los microorganismos puede desencadenar neumonía primaria.

El diagnóstico se basa en los títulos crecientes de aglutinina y en el cultivo del microorganismo a partir de lesiones locales en seres humanos o caballos. Los casos humanos se pueden tratar eficazmente con los mismos esquemas de antimicrobianos que se utilizan para tratar la melioidosis.

La enfermedad se ha controlado mediante el sacrificio de los caballos y mulas infectados y en la actualidad es muy infrecuente. En algunos países, las infecciones en el laboratorio son la única fuente de la infección.

COMPLEJO *BURKHOLDERIA CEPACIA* Y *BURKHOLDERIA GLADIOLI*

La especie prototípica *Burkholderia cepacia* más un mínimo de otras ocho especies constituyen el **complejo *Burkholderia cepacia***. Otras cepas no pueden asignarse a estas especies basándose en métodos moleculares. *Burkholderia gladioli* es una especie íntimamente relacionada. Por consiguiente, es compleja la clasificación de estas bacterias; es difícil su identificación específica. Son microorganismos ambientales que pueden multiplicarse en agua, suelo, plantas, animales y materiales vegetales en descomposición. En los hospitales, *B. cepacia* se ha aislado de diversas fuentes de agua y ambientales de las cuales puede transmitirse a pacientes. En particular, las personas con fibrosis quística y aquellas con enfermedad granulomatosa crónica son vulnerables a la infección por bacterias del complejo de *B. cepacia.* Es posible que *B. cepacia* pueda transmitirse de un paciente con CF a otro por el contacto estrecho. Pueden ser portadores asintomáticos, presentar un deterioro progresivo durante un periodo de meses o un deterioro rápidamente progresivo con neumonía necrosante y bacteriemia. Aunque un porcentaje relativamente pequeño de pacientes con CF se infecta, la relación con la enfermedad progresiva hace del complejo de *B. cepacia* un problema importante en estos pacientes. Un diagnóstico de infección por *B. cepacia* en un paciente con fibrosis quística puede modificar notablemente su vida, pues es posible que se les prohíba relacio-

narse con otros pacientes con CF y que ya no sean elegibles para el trasplante pulmonar.

B. cepacia se multiplica en casi todos los medios que se utilizan para el cultivo de muestras para bacterias gramnegativas. También se pueden utilizar los medios selectivos que contienen colistina. *B. cepacia* se multiplica con más lentitud que los bacilos gramnegativos intestinales y pueden transcurrir tres días antes de que sean visibles las colonias. Los microorganismos de la especie *B. cepacia* son oxidasa positivos, lisina descarboxilasa positivos y producen ácido a partir de glucosa, pero para distinguir a *B. cepacia* de otras pseudomonas, como *Stenotrophomonas maltophilia* es necesaria una serie de pruebas bioquímicas y puede ser difícil. Se recomienda enviar las cepas a laboratorios de referencia a causa de las repercusiones pronósticas de la colonización en los pacientes con CF. En Estados Unidos, la Fundación de fibrosis quística respalda un laboratorio de referencia que utiliza métodos fenotípicos y genotípicos para confirmar la identidad de los microorganismos dentro del complejo de *B. cepacia.* Se deben realizar pruebas de susceptibilidad en las cepas del complejo de *B. cepacia,* aunque la multiplicación lenta puede dificultar las pruebas sistemáticas. El complejo de *B. cepacia* de pacientes con CF suele ser resistente a múltiples fármacos.

STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA

Stenotrophomonas maltophilia es un bacilo gramnegativo de vida libre que tiene una amplia distribución en el medio ambiente. En agar sangre, las colonias tienen un color verde lavanda o gris. El microorganismo es oxidasa negativo y lisina descarboxilasa positivo.

S. maltophilia es una causa cada vez más importante de infecciones intrahospitalarias en pacientes que reciben tratamiento antimicrobiano y en pacientes inmunodeficientes. Se ha aislado en muchas zonas anatómicas, como secreciones del sistema respiratorio, orina, heridas de la piel y sangre. Las cepas suelen ser parte de la microflora mixta presente en las muestras. Cuando los hemocultivos son positivos, suele deberse al empleo de catéteres intravenosos de plástico a permanencia.

S. maltophilia suele ser susceptible a trimetoprim-sulfametoxazol y ticarcilina con ácido clavulánico y resistente a los otros antimicrobianos frecuentes, como cefalosporinas, aminoglucósidos, imipenem y las quinolonas. El uso generalizado de los fármacos ante los cuales *S. maltophilia* es resistente tiene una repercusión importante en la frecuencia creciente con la cual produce enfermedad.

OTRAS PSEUDOMONAS

En el cuadro 16-1 se presentan algunos de los múltiples géneros y especies del grupo de las pseudomonas; en ocasiones estas pseudomonas son patógenos oportunistas. El diagnóstico de las infecciones causadas por estas pseudomonas se establece mediante el cultivo de las bacterias y su identificación mediante reacciones diferenciales en una serie compleja de sustratos bioquímicos. Muchas de las especies que no son *P. aeruginosa* no fermentan y son difíciles de identificar con los métodos sistemáticos; en ocasiones es necesario enviar las muestras a un laboratorio de referencia para obtener la identificación definitiva. Muchas de las pseudomonas tienen tipos de susceptibilidad antimicrobiana diferente a los de *P. aeruginosa.*

ACINETOBACTER

Las especies del género *Acinetobacter* son bacterias gramnegativas aerobias que tienen una amplia distribución en el suelo y el agua y que a veces se cultivan de piel, mucosas, secreciones y del medio hospitalario.

Acinetobacter baumannii es la especie que se aísla con más frecuencia. A veces se aísla *Acinetobacter lwoffii, Acinetobacter johnsonii, Acinetobacter haemolyticus,* y otras especies. Algunas cepas no han recibido nombres específicos. Las especies del género *Acinetobacter* anteriormente se designaban con diferentes nombres, como *Mima polymorpha* y *Herellea vaginicola*, lo que reflejaba muchas de las características de los microorganismos.

Los microorganismos del género *Acinetobacter* suelen tener aspecto cocobacilar o de coco; se parecen a los gonococos en los frotis, pues predominan las formas diplocócicas en los líquidos corporales y en los medios sólidos. También se observan formas de bastón y en ocasiones las bacterias tienen aspecto grampositivo. Las especies del género *Acinetobacter* se multiplican bien en casi todos los tipos de medios que se utilizan para cultivar muestras de pacientes. *Acinetobacter* aislado de casos de meningitis y de septicemia se ha confundido con *Neisseria meningitidis*; asimismo, *Acinetobacter* aislado del aparato genital femenino se ha confundido con *Neisseria gonorrhoeae.* Sin embargo, los gonococos producen oxidasa y *Acinetobacter* no la produce.

Los *Acinetobacter* a menudo son comensales pero a veces producen infección intrahospitalaria. Se ha aislado *A. baumannii* de sangre, esputo, piel, líquido pleural y orina, por lo general en infecciones relacionadas con dispositivos. *A. johnsonii* es un microorganismo patógeno intrahospitalario de baja virulencia y se ha detectado en hemocultivos de pacientes con catéteres intravenosos de plástico. Los *Acinetobacter* que se identifican en neumonías intrahospitalarias a menudo se originan en el agua de humidificadores ambientales o vaporizadores. En los pacientes con bacteriemias por *Acinetobacter*, los catéteres intravenosos casi siempre son la fuente de la infección. En los enfermos con quemaduras o con deficiencias inmunitarias, los *Acinetobacter* son microorganismos oportunistas y pueden producir septicemia. Las cepas de *Acinetobacter* suelen ser resistentes a los antimicrobianos y puede ser difícil el tratamiento de la infección. Se deben realizar pruebas de susceptibilidad para seleccionar los mejores antimicrobianos para el tratamiento. Las cepas de *Acinetobacter* responden muy a menudo a la gentamicina, la amikacina o la tobramicina y a las penicilinas o cefalosporinas más recientes.

BACTERIAS GRAMNEGATIVAS INFRECUENTES

ACTINOBACILLUS

Aggregatibacter actinomycetemcomitans (anteriormente *Actinobacillus actinomycetemcomitans*) es un microorganismo coco-

bacilar gramnegativo pequeño que se multiplica con lentitud. Como su nombre lo implica, a menudo se aísla en la actinomicosis. También produce periodontitis grave en adolescentes, endocarditis, abscesos, osteomielitis y otras infecciones. Se puede tratar con tetraciclina o cloranfenicol y a veces con penicilina G, ampicilina o eritromicina.

ACHROMOBACTER Y ALCALIGENES

La clasificación de especies del género *Achromobacter* y *Alcaligenes* es cambiante y confusa. Estos grupos comprenden especies de bacilos gramnegativos oxidasa positivos. Tienen flagelos peritricosos y son móviles, lo que los distingue de las pseudomonas. Alcalinizan el medio de citrato y el medio de oxidación y fermentación que contiene glucosa y son ureasa negativos. Pueden ser parte de la flora bacteriana humana normal y se han aislado en respiradores, nebulizadores y sistemas de diálisis renal. A veces se aíslan de orina, sangre, líquido cefalorraquídeo, heridas y abscesos. Se ha aislado *Achromobacter xylosoxidans* subespecie *xylosoxidans* de muchas regiones del cuerpo pero es infrecuente como única causa de infección.

OCHROBACTRUM

El género *Ochrobactrum* contiene especies anteriormente clasificadas en el género *Achromobacter* y también tiene otras especies del género *Ochrobactrum.* Son similares a *Achromobacter* y *Alcaligenes. Ochrobactrum anthropi* muy a menudo se aísla en casos de bacteriemia relacionados con el catéter intravascular. También puede contaminar productos biológicos.

CAPNOCYTOPHAGA

Las especies del género *Capnocytophaga* son bacilos capnófilos, gramnegativos, fusiformes o filamentosos de multiplicación lenta. Son fermentadores y anaerobios facultativos que necesitan CO_2 para su multiplicación en medio aerobio. Muestran **movilidad por deslizamiento**, que puede verse como excrecencias de las colonias. Producen una sustancia que modifica la actividad quimiotáctica del polimorfonuclear. *Capnocytophaga ochracea*, *Capnocytophaga sputigena* y *Capnocytophaga gingivalis* son miembros de la misma flora bucal normal del ser humano. Se han relacionado con periodontitis grave en jóvenes. A veces producen bacteriemia y enfermedad multiorgánica grave en pacientes inmunodeficientes, sobre todo en pacientes granulocitopénicos con ulceraciones bucales. *Capnocytophaga canimorsus* (anteriormente DF-2-fermentador disgónico 2) está presente en la microflora bucal de los perros. Cuando se transmite al ser humano a veces produce una infección fulminante en los pacientes asplénicos, en alcohólicos y, raras veces, en personas sanas. *Capnocytophaga cynodegmi* (similar a DF-2) se relaciona con infecciones de heridas por mordeduras de perro o rasguños de gato.

CARDIOBACTERIUM

Cardiobacterium hominis, otra bacteria con un nombre descriptivo, es un bacilo gramnegativo facultativamente anaerobio y pleomorfo que forma parte de la microflora normal del aparato respiratorio alto y del intestino y a veces es causa de endocarditis. Utilizando un medio de cultivo moderno, ya no es necesario mantener los hemocultivos por más de cinco a siete días que es el periodo de incubación habitual para la multiplicación de *Cardiobacterium.*

CHROMOBACTERIUM

Chromobacterium violaceum es un bacilo gramnegativo que se parece a las pseudomonas. El microorganismo suele producir un pigmento violeta. Tiene una distribución en climas subtropicales en suelo y en agua y puede infectar a animales y a seres humanos a través de heridas de la piel o a través del intestino. Esto puede ocasionar abscesos, diarrea y septicemia, con muchos decesos. Las cromobacterias suelen ser susceptibles a cloranfenicol, tetraciclinas y aminoglucósidos.

EIKENELLA CORRODENS

E. corrodens es un bacilo gramnegativo capnófilo pequeño y difícil de aislar que forma parte de la microflora gingival e intestinal de 40 a 70% de las personas. Alrededor de 50% de las cepas forma grietas en agar durante varios días de la incubación necesaria para su multiplicación. *Eikenella* es oxidasa positiva y no fermenta carbohidratos. Se encuentra en infecciones por microflora mixta relacionadas con la contaminación por microorganismos de la mucosa bucal; a menudo se presenta con estreptococos. Ocurre a menudo en infecciones por mordeduras humanas. *Eikenella* es invariablemente resistente a clindamicina, la cual se puede utilizar para elaborar un medio de agar selectivo. *Eikenella* suele ser susceptible a la ampicilina y a las penicilinas y cefalosporinas más recientes. Se han comunicado cepas productoras de lactamasa β.

CHRYSEOBACTERIUM

Los microorganismos del grupo *Chryseobacterium* son bacilos largos, delgados, inmóviles y gramnegativos, oxidasa positivos, son proteolíticos y débilmente fermentadores. A menudo forman colonias amarillas distintivas. Las criseobacterias suelen detectarse en drenajes, grifos y en equipo médico que se ha expuesto al agua contaminada y no esterilizada. Las criseobacterias a veces colonizan el aparato respiratorio. *Chryseobacterium meningosepticum* pocas veces produce meningitis. Las especies del género *Chryseobacterium* a menudo son resistentes a muchos antimicrobianos.

KINGELLA

El grupo *Kingella* comprende tres especies, de las cuales *Kingella kingae* es un microorganismo oxidasa positivo, inmóvil, que es hemolítico cuando se multiplica en agar sangre. Es un bacilo gramnegativo, pero son frecuentes las formas cocobacilares y diplocócicas. Es parte de la microflora bucal normal y a veces produce infecciones de huesos, articulaciones y tendones. El microorganismo probablemente entra en la circulación con los traumatismos leves de la cavidad bucal, por ejemplo, con el cepillado dental. Es susceptible a penicilina, ampicilina, eritromicina y otros antimicrobianos.

MORAXELLA

El grupo *Moraxella* comprende seis especies. Son microorganismos inmóviles, no fermentan y son oxidasa positivos. En la tinción tienen el aspecto de pequeños bacilos gramnegativos, cocobacilos o cocos. Son miembros de la microflora normal del aparato respiratorio alto y a veces producen bacteriemia, endocarditis, conjuntivitis, meningitis u otras infecciones. La mayor parte de ellos es susceptible a la penicilina y a otros antimicrobianos. *Moraxella catarrhalis* a menudo produce lactamasa β (cap. 20).

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un cultivo de esputo de un paciente con fibrosis quística revela *Pseudomonas aeruginosa* que forma colonias muy mucoides. ¿Cuál de las siguientes es una repercusión de esta observación?
   (A) *Pseudomonas aeruginosa* es muy susceptible al aminoglucósido tobramicina
   (B) *Pseudomonas aeruginosa* se infecta con una piocina (una bacteriocina)
   (C) Las colonias son mucoides porque tienen cápsula de polisacárido de ácido hialurónico
   (D) El gen de la exotoxina A se ha desactivado y *Pseudomonas aeruginosa* ya no puede bloquear la síntesis de proteína de la célula hospedadora
   (E) *Pseudomonas aeruginosa* ha formado una biopelícula en las vías respiratorias del paciente
2. Un bacilo gramnegativo ambiental que es resistente a cefalosporinas, aminoglucósidos y quinolonas, que se ha convertido en un microorganismo patógeno intrahospitalario muy importante, lo cual en gran parte se debe a que se ha seleccionado con el uso de estos antibióticos. Este bacilo gramnegativo puede tardar dos a tres días para multiplicarse y se debe diferenciar de *Burkholderia cepacia.* Es
   (A) *Pseudomonas aeruginosa*
   (B) *Acinetobacter baumannii*
   (C) *Alcaligenes xylosoxidans*
   (D) *Klebsiella pneumoniae*
   (E) *Stenotrophomonas maltophilia*
3. Este bacilo gramnegativo que es oxidasa positivo y no fermenta carbohidratos se suele identificar en infecciones por mordeduras humanas
   (A) *Escherichia coli*
   (B) *Neisseria meningitidis*
   (C) *Chromobacterium violaceum*
   (D) *Eikenella corrodens*
   (E) *Proteus mirabilis*
4. Una joven de 17 años de edad con fibrosis quística tiene un leve incremento de su tos frecuente y producción de esputo mucoide. Se obtiene una muestra del esputo y se coloca en una placa con medios de cultivo habituales. Los microorganismos predominantes identificados son bacilos gramnegativos que forman colonias muy mucoides después de 48 h de incubación. Estos bacilos son oxidasa positivos, se multiplican a una temperatura de 42°C y tienen un olor similar a las uvas. ¿Cuáles de los siguientes son estos bacilos gramnegativos?
   (A) *Klebsiella pneumoniae*
   (B) *Pseudomonas aeruginosa*
   (C) *Staphylococcus aureus*
   (D) *Streptococcus pneumoniae*
   (E) *Burkholderia cepacia*
5. El esputo de la paciente de 17 años de edad con fibrosis quística (pregunta 4) también se coloca en agar con sal y manitol, el cual adopta un color amarillo (a partir del rosa original) donde se están multiplicando colonias blancas de cocos grampositivos; los cocos son catalasa y coagulasa positivos. Los microorganismos que se multiplican en agar de sal y manitol son
   (A) *Burkholderia cepacia*
   (B) *Streptococcus pneumoniae*
   (C) *Stenotrophomonas maltophilia*
   (D) *Staphylococcus aureus*
   (E) *Streptococcus pyogenes*
6. El esputo de la paciente de 17 años de edad con fibrosis quística (pregunta 4) también se coloca en placa con agar que contiene colistina. Después de 72 h de incubación, en el agar que contiene colistina crecen bacilos gramnegativos que son oxidasa positivos pero por lo demás son difíciles de identificar. Este microorganismo es muy problemático. Se envía la muestra a un laboratorio de referencia para que se puedan utilizar métodos moleculares para identificar o descartar al siguiente microorganismo
   (A) *Pseudomonas aeruginosa*
   (B) *Burkholderia cepacia*
   (C) *Haemophilus influenzae*
   (D) *Pseudomonas putida*
   (E) *Burkholderia pseudomallei*
7. Cuando se aísla un microorganismo del complejo de *Burkholderia cepacia* en un paciente con fibrosis quística se debe tener sumo cuidado para identificarlo por cuál de los siguientes motivos
   (A) *Burkholderia cepacia* suele ser susceptible a la penicilina G y no así otros bacilos gramnegativos similares
   (B) La presencia del complejo de *Burkholderia cepacia* en las vías respiratorias de un paciente con fibrosis quística tiene repercusiones importantes para el pronóstico a largo plazo del paciente y las opciones terapéuticas
   (C) Sólo *Burkholderia cepacia* produce biopelículas
   (D) El complejo de *Burkholderia cepacia* produce una enzima, la esputolisasa, que causa licuefacción del esputo y hace que el paciente pueda toser y despejar las vías respiratorias con más facilidad
   (E) Se suelen utilizar medios selectivos para *Pseudomonas aeruginosa* en los cultivos del esputo de pacientes con fibrosis quística y éstos suelen inhibir a los microorganismos del complejo de *Burkholderia cepacia* lo que dificulta identificarlos
8. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a las especies de *Actinobacter* es correcta?
   (A) Tienen una amplia distribución en la naturaleza y en el medio intrahospitalario
   (B) Por lo general no son patógenos en individuos sanos
   (C) Pueden tener el aspecto de cocos grampositivos
   (D) Pueden tener una morfología parecida a las especies del género *Neisseria* en las tinciones de Gram de las secreciones endocervicales para diagnosticar gonorrea en las mujeres
   (E) Pueden ser una causa notable de neumonía relacionada con el respirador en los pacientes internados en las unidades de cuidados intensivos
   (F) Todas las anteriores
9. Un bombero de 37 años de edad inhala humo y es hospitalizado para apoyo con ventilación mecánica. Tiene tos intensa y comienza a expectorar un esputo purulento. La tinción de Gram de esta muestra de esputo muestra múltiples células polimorfonucleares así como numerosos bacilos gramnegativos. El cultivo del esputo revela múltiples bacilos gramnegativos que son oxidasa positivos. Se multiplican bien a una temperatura de 42°C. En el medio de agar transparente producen un color verde en el agar. El agar donde se localiza el color verde es fluorescente cuando es expuesto a la luz ultravioleta. El microorganismo que está causando la infección del paciente es
   (A) *Pseudomonas aeruginosa*
   (B) *Klebsiella pneumoniae*

(C) *Escherichia coli*
(D) *Burkholderia cepacia*
(E) *Burkholderia pseudomallei*

10. El pigmento producido por el microorganismo en la pregunta 1 es
(A) Verde de aguamarina
(B) Aerobactina
(C) Enteroquelina
(D) Pioverdina
(E) Prodigiosina

11. *Burkholderia cepacia* se detecta con poca frecuencia en
(A) Piscinas
(B) Suelo
(C) Agua de estanques
(D) Plantas

12. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a *Pseudomonas aeruginosa* es correcta?
(A) *Pseudomonas aeruginosa* suele ser susceptible a la penicilina G
(B) *Pseudomonas aeruginosa* se multiplica fácilmente en hemocultivos anaerobios
(C) *Pseudomonas aeruginosa* puede penetrar la piel humana normal intacta al elaborar la enzima invasina
(D) *Pseudomonas aeruginosa* raras veces produce neumonía
(E) *Pseudomonas aeruginosa* tiene fimbrias que favorecen la adherencia a las células epiteliales

13. El mecanismo de acción de la exotoxina A de *Pseudomonas aeruginosa* es
(A) Activar la acetilcolina esterasa
(B) Bloquear el factor de elongación 2 (EF2)
(C) Formar poros en leucocitos e incrementar la permeabilidad a los cationes
(D) Incrementar el monofosfato de adenosina cíclico intracelular
(E) Desdoblar lecitina en fosforilcolina y diacilglicerol

14. Las bacterias HACEK a veces producen endocarditis indolente u otras infecciones. ¿A cuál de los siguientes rrepresenta este acrónimo?
(A) *Cardiobacterium hominis*
(B) *Eikenella corrodens*
(C) *Kingella kingae*
(D) *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (anteriormente *Actinobacillus actinomycetemcomitans*)
(E) *Aggregatibacter aphrophilus* (antes *Haemophilus aphrophilus*)
(F) Todos los anteriores

Respuestas

1. E	5. D	9. A	13. B
2. E	6. B	10. D	14. F
3. D	7. B	11. A	
4. B	8. F	12. E	

BIBLIOGRAFÍA

Blondell-Hill E, Henry DA, Speert DP: *Pseudomonas*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

LiPuma JJ et al: *Burkholderia, Stenotrophomonas, Ralstonia, Cupriavidus, Pandoraea, Brevundimonas, Comamonas, Delftia, and Acidovorax*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Maschmeyer G, Göbel UB: *Stenotrophomonas maltophilia and Burkholderia cepacia* complex. In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.

Pier GB, Ramphal R: *Pseudomonas aeruginosa*. In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.

Schreckenberger PC et al: *Acinetobacter, Achromobacter, Chryseobacterium, Moraxella,* and other nonfermentative gram-negative rods. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Steinberg JP, Burd EM: Other gram-negative and gram-variable bacilli. In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.

CAPÍTULO

17

Vibrios, *Campylobacter*, *Helicobacter* y bacterias relacionadas

Las especies de los géneros *Vibrio, Aeromonas, Plesiomonas, Campylobacter* y *Helicobacter* son bacilos gramnegativos que tienen una amplia distribución en la naturaleza. Los vibrios se encuentran en aguas marinas y de superficie. *Aeromonas* tiene una distribución predominante en agua dulce y a veces en animales de sangre fría. *Plesiomonas* existe tanto en animales de sangre fría como de sangre caliente. Los *Campylobacter* se detectan en muchas especies de animales, incluidos varios animales domésticos. *Vibrio cholerae* produce la enterotoxina que causa el cólera, una diarrea líquida abundante que rápidamente puede desencadenar deshidratación y la muerte del paciente. *Campylobacter jejuni* es una causa frecuente de enteritis en el ser humano. Con menos frecuencia *Aeromonas* y, pocas veces, *Plesiomonas,* se han relacionado con enfermedades diarreicas en el ser humano. *Helicobacter pylori* se ha relacionado con gastritis y úlcera duodenal.

VIBRIOS

Los vibrios son unas de las bacterias más frecuentes en las aguas de superficie de todo el mundo. Son bacilos aerobios curvos y móviles que poseen un flagelo polar. Los serogrupos de *V. cholerae* O1 y O139 producen cólera en el ser humano, en tanto que otros vibrios pueden ser causa de sepsis o enteritis. En el cuadro 17-1 se presentan los vibrios de importancia médica.

CUADRO 17-1 Vibrios de importancia médica

Microorganismo BHU	Enfermedad en seres humanos
Vibrio cholerae serogrupos O1 y O139	Cólera epidémico y pandémico
Vibrio cholerae serogrupos no O1/ no O139	Diarrea coleriforme; diarrea leve; raras veces infecciones extraintestinales
Vibrio parahaemolyticus	Gastroenteritis, tal vez infecciones extraintestinales
Otros *Vibrio mimicus, Vibrio vulnificus, Vibrio hollisae, Vibrio fluvialis, Vibrio damsela, Vibrio anginolyticus, Vibrio metschnikovii*	Infecciones de oído, heridas, tejidos blandos y otros lugares extraintestinales, todas infrecuentes

VIBRIO CHOLERAE

Las características epidemiológicas del cólera son muy parecidas al reconocimiento de la transmisión de *V. cholerae* en el agua y el desarrollo de sistemas sanitarios de agua.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

En el aislamiento inicial, *V. cholerae* es un bacilo curvo de forma de coma de 2 a 4 μm de longitud (fig. 17-1). Se mueve por medio de un flagelo polar. En el cultivo prolongado, los vibrios pueden convertirse en bacilos rectos que se parecen a las bacterias entéricas gramnegativas.

B. Cultivo

V. cholerae produce colonias convexas, lisas y redondas que son opacas y granulosas en la luz transmitida. *V. cholerae* y la mayor

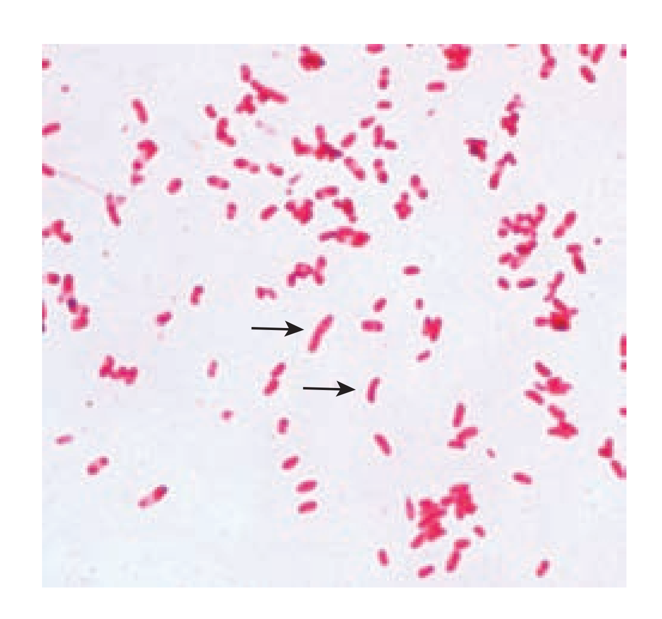


FIGURA 17-1 Tinción de Gram de *Vibrio cholerae.* A menudo tienen forma de coma o levemente curveados (*flechas*) y miden 1 × 2 a 4 μm. Aumento original × 1 000.

parte de los demás vibrios se multiplican bien a una temperatura de 37°C en muchas clases de medios, incluidos los medios definidos que contienen sales minerales y asparagina como fuentes de carbono y nitrógeno. *V. cholerae* se multiplica bien en agar de **tiosulfato-citrato-bilis-sacarosa** (TCBS, *thiosulfate-citrate-bile-sucrose*), en el cual produce colonias amarillas que son fácilmente visibles sobre un fondo de color verde oscuro de agar (fig. 17-2). Los vibrios son oxidasa positivos, lo que los distingue de las bacterias gramnegativas entéricas. Es característico que los vibrios se multipliquen a un pH muy alto (8.5 a 9.5) y que rápidamente sean destruidos por ácido. Por tanto, los cultivos que contienen hidratos de carbono fermentables se vuelven estériles con rapidez.

En zonas donde el cólera es endémico, son apropiados los cultivos directos de las heces en medios selectivos, como el TCBS y cultivos enriquecidos en agua de peptona alcalina. Sin embargo, los coprocultivos sistemáticos en medios especiales como TCBS por lo general no son necesarios ni rentables en zonas donde es infrecuente el cólera.

C. Características de crecimiento

Por lo regular *V. cholerae* fermenta sacarosa y manosa pero no arabinosa. Una prueba de oxidasa positiva es un paso clave en la identificación preliminar de *V. cholerae* y otros vibrios. Las especies del género *Vibrio* son susceptibles al compuesto O/129 (fosfato de 2,4-diamino-6,7-diisopropilpteridina), que los diferencia de las especies del género *Aeromonas,* que son resistentes al compuesto O/129. La mayor parte de las especies del género *Vibrio* son halotolerantes y el NaCl a menudo estimula su multiplicación. Algunos vibrios son halófilos y necesitan la presencia de NaCl para multiplicarse. Otra diferencia entre los vibrios y las aeromonas es que los primeros crecen en medios que contienen NaCl al 6%, y las aeromonas no.

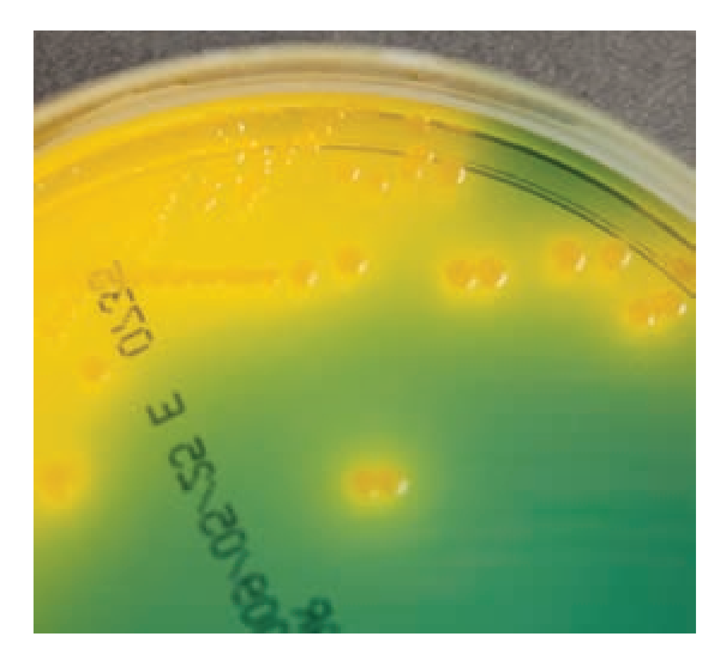


FIGURA 17-2 Colonias de *Vibrio cholerae* en agar de tiosulfato, citrato, sales biliares y sacarosa (TCBS). Las colonias de color amarillo brillante tienen un diámetro de 2 a 3 mm y están rodeadas por un color amarillo difuso del indicador en el agar de hasta 1 cm de diámetro. La placa tiene un diámetro de 10 cm.

Estructura antigénica y clasificación biológica

Muchos vibrios comparten un solo antígeno H flagelar termolábil. Los anticuerpos contra el antígeno H probablemente no intervienen en la protección de los hospedadores susceptibles.

V. cholerae tiene lipopolisacáridos O que le confieren una especificidad serológica. Existen por lo menos 139 grupos de antígeno O. Las cepas de *V. cholerae* del grupo O1 y del grupo O139 producen el cólera característico; en ocasiones, los cóleras *V. cholerae* no O1/no O139 producen una enfermedad parecida al cólera. Los anticuerpos contra los antígenos O tienden a proteger a los animales de laboratorio contra las infecciones por *V. cholerae*.

El antígeno del serogrupo O1 de *V. cholerae* tiene determinantes que permiten una tipificación adicional: los serotipos son Ogawa, Inaba e Hikojima. Se han definido dos biotipos de *V. cholerae* epidémico, el clásico y El Tor. El biotipo El Tor produce una hemolisina, da resultados positivos en la prueba de Voges-Proskauer y es resistente a la polimixina B. También se pueden utilizar técnicas moleculares para tipificar *V. cholerae.* Se utiliza la tipificación para los estudios epidemiológicos y por lo general sólo se llevan a cabo las pruebas en laboratorios de referencia.

V. cholerae O139 es muy similar a *V. cholerae* O1 biotipo El Tor. *V. cholerae* O139 no produce el lipopolisacárido O1 ni tiene todos los genes necesarios para elaborar este antígeno. *V. cholerae* O139 elabora una cápsula de polisacárido, al igual que otras cepas de *V. cholerae* no O1, en tanto que *V. cholerae* O1 no sintetiza una cápsula.

Enterotoxinas de *Vibrio cholerae*

V. cholerae produce una enterotoxina termolábil con un peso molecular cercano a 84 000 que consta de subunidades A (PM 28 000) y B (cap. 9). El gangliósido GM_1 actúa como receptor mucoso para la subunidad B, que favorece la entrada de la subunidad A en la célula. La activación de la subunidad A_1 genera mayores concentraciones de cAMP intracelular y da por resultado una hipersecreción prolongada de agua y electrólitos. Se presenta un incremento de la secreción de cloruro dependiente de sodio y se inhibe la absorción de sodio y cloruro. Ocurre diarrea, incluso de 20 a 30 L/día, lo cual da por resultado deshidratación, choque, acidosis y muerte. Los genes para la enterotoxina de *V. cholerae* se hallan en el cromosoma de la bacteria. La enterotoxina del cólera tiene una relación antigénica con LT de *Escherichia coli* y puede estimular la producción de anticuerpos neutralizantes. Sin embargo, no está clara la función precisa de los anticuerpos antitóxicos y antibacterianos en la protección contra el cólera.

Patogenia y anatomía patológica

En condiciones naturales, *V. cholerae* es patógeno sólo para el ser humano. Una persona con acidez gástrica normal tiene que ingerir 10^{10} o más *V. cholerae* para infectarse cuando el vehículo es agua, pues los microorganismos son susceptibles al ácido. Cuando el vehículo es alimento, se necesita un mínimo de 10^2 a 10^4 microorganismos por la capacidad amortiguadora del alimento. Todo fármaco o trastorno que disminuya la acidez gástrica vuelve a una persona más susceptible a la infección por *V. cholerae*.

El cólera no es una infección invasiva. Los microorganismos no llegan al torrente sanguíneo sino que permanecen en el tubo digestivo. Los microorganismos virulentos de *V. cholerae* se adhieren a las microvellosidades del borde en cepillo de las células epiteliales. Ahí se multiplican y liberan la toxina del cólera y tal vez mucinasas y endotoxina.

Manifestaciones clínicas

Casi 60% de las infecciones por *V. cholerae* clásico son asintomáticas lo mismo que casi 75% de las infecciones por el biotipo El Tor. El periodo de incubación es de uno a cuatro días para las personas que presentan síntomas, lo cual depende en gran parte del tamaño del inóculo ingerido. Hay inicio brusco de náusea y vómito y una diarrea abundante con cólicos abdominales. Las heces, que semejan "agua de arroz", contienen moco, células epiteliales y un gran número de vibrios. Hay una pérdida rápida de líquidos y electrólitos, lo cual lleva a una deshidratación intensa, colapso circulatorio y anuria. La tasa de mortalidad sin tratamiento es de 25 a 50%. El diagnóstico de un caso de cólera real no plantea problemas cuando hay una epidemia. Sin embargo, los casos esporádicos o leves no son fáciles de distinguir de otras enfermedades diarreicas. El biotipo El Tor tiende a producir enfermedad más leve que el biotipo clásico.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras para cultivo consisten en muestras de moco de las heces.

B. Frotis

El aspecto microscópico de los frotis tomados de muestras fecales no es distintivo. La microscopia de campo oscuro o de contraste de fase puede mostrar los vibrios que se mueven rápidamente.

C. Cultivo

La multiplicación de los microorganismos es rápida en agar peptona, en agar sangre con un pH cercano a 9.0 o en agar TCBS, y se pueden obtener colonias características en un lapso de 18 h. Para el enriquecimiento del medio, se pueden incubar algunas gotas de heces durante 6 a 8 h en caldo de taurocolato-peptona (pH 8.0 a 9.0); los microorganismos de este cultivo se pueden teñir o se pueden someter a subcultivo.

D. Pruebas específicas

Los microorganismos de *V. cholerae* se identifican también mediante las pruebas de aglutinación en portaobjetos utilizando antisueros anti-O del grupo 1 o del grupo 139 y mediante patrones de reacción bioquímica.

Inmunidad

El ácido gástrico confiere cierta protección contra los vibrios del cólera.

Un ataque de cólera va seguido de inmunidad contra la reinfección, pero se desconoce la duración y el grado de inmunidad. En los animales de experimentación, ocurren anticuerpos IgA específicos en la luz del intestino. Después de la infección se presentan en el suero anticuerpos similares pero sólo duran algunos meses. Los anticuerpos vibriocidas en el suero (título ≥1:20) se han relacionado con protección contra la colonización y la enfermedad. La presencia de anticuerpos antitoxina no se ha relacionado con protección.

Tratamiento

La parte más importante del tratamiento consiste en la reposición de líquidos y electrólitos para corregir la deshidratación grave y la hiponatriemia. Muchos antimicrobianos son eficaces contra *V. cholerae.* Las tetraciclinas por vía oral tienden a reducir la emisión de heces en el cólera y abrevian el periodo de excreción de vibrios. En algunas zonas endémicas, ha surgido resistencia de *V. cholerae* a las tetraciclinas; los genes son transportados por plásmidos transmisibles.

Epidemiología, prevención y control

Ocurrieron seis pandemias (epidemias en todo el mundo) de cólera entre 1817 y 1923, causadas muy posiblemente por *V. cholerae* O1 del biotipo clásico y en gran parte se originaron en Asia, por lo general en el subcontinente indio. La séptima pandemia comenzó en 1961 en las Islas Célebes de Indonesia, con diseminación a Asia, Medio Oriente, y África. Esta pandemia fue causada por *V. cholerae* biotipo El Tor. La séptima pandemia, que comenzó en 1991, se propagó a Perú y luego a otros países de Sudamérica y Centroamérica. También se presentaron casos en África. En esta pandemia millones de personas han padecido cólera. Hay quienes consideran que el cólera causado por la cepa de serotipo O139 es la octava pandemia que comenzó en el subcontinente Indio en 1992 a 1993 con propagación a Asia. La enfermedad ha sido infrecuente en Norteamérica desde mediados de 1800, pero existe un foco endémico en la costa del Golfo de Louisiana y Texas.

El cólera es endémico en India y en el sureste de Asia. Desde estos centros, es transportado por las vías de embarque, rutas de comercio y rutas de migración de peregrinos. La enfermedad se disemina por el contacto de individuos con la enfermedad leve o inicial y por el agua, los alimentos y las moscas. En muchos casos, sólo 1 a 5% de las personas susceptibles expuestas presentan la enfermedad. El estado de portador pocas veces dura más de tres a cuatro semanas y no está clara la importancia de los portadores en la transmisión de la enfermedad. Los vibrios sobreviven en agua hasta por tres semanas.

V. cholerae vive en medios acuáticos y tales ambientes son el reservorio natural de los vibrios. *V. cholerae* vive adherido a algas, copépodos y conchas de crustáceos. Puede sobrevivir por años y multiplicarse, pero cuando las condiciones no son adecuadas para su multiplicación puede volverse latente.

El control se basa en la educación y en la mejora de las condiciones sanitarias, sobre todo del alimento y del agua. Se debe aislar a los pacientes, desinfectar sus excretas y realizar seguimiento a los contactos. La quimioprofilaxis con fármacos antimicrobianos puede ser útil. La inyección repetida de una vacuna que contenga lipopolisacáridos extraídos de vibrios o suspensiones densas de *Vibrio* puede conferir una protección limitada a las personas con una exposición intensa (p. ej., contactos familiares) pero no es una medida eficaz de control epidémico.

VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS Y OTROS VIBRIOS

Vibrio parahaemolyticus es una bacteria halófila que produce gastroenteritis aguda tras la ingestión de mariscos contaminados como pescado crudo o crustáceos. Tras un periodo de incubación de 12 a 24 horas, se presentan náusea y vómito, cólicos abdominales, fiebre y diarrea líquida a sanguinolenta. A menudo se detectan leucocitos fecales. La enteritis tiende a desaparecer en forma espontánea en un lapso de uno a cuatro días sin otro tratamiento que no sea el restablecimiento del equilibrio hidroelectrolítico. Hasta el momento no se ha aislado ninguna enterotoxina de este microorganismo. La enfermedad tiene una distribución mundial con una incidencia más alta en zonas donde las personas consumen mariscos crudos. *V. parahaemolyticus* no crece en algunos de los medios selectivos que se utilizan para el crecimiento de *Salmonella* y *Shigella*, pero sí en agar sangre. También crece bien en TCBS, donde genera colonias de color verde. *V. parahaemolyticus* suele identificarse porque produce oxidasa en agar sangre.

Vibrio vulnificus puede causar infecciones graves de heridas, bacteriemia y probablemente gastroenteritis. Es una bacteria de estuarios, de vida libre que existe en Estados Unidos en el Atlántico y las costas del Pacífico y sobre todo en la costa del Golfo. Se han comunicado infecciones en Corea y el microorganismo puede tener una distribución mundial. Es muy posible que *V. vulnificus* se encuentre en ostiones, sobre todo en los meses cálidos. La bacteriemia sin un foco infeccioso ocurre en personas que han consumido ostiones infectados o en alcohólicos o hepatópatas. Las heridas pueden infectarse en personas normales o en inmunodeprimidos que entran en contacto con agua donde está presente la bacteria. La infección suele evolucionar con rapidez, con la aparición de una enfermedad grave. Casi 50% de los pacientes con bacteriemia fallece. Las infecciones de las heridas pueden ser leves pero a menudo evolucionan con rapidez (en el curso de algunas horas) presentándose lesiones cutáneas ampollosas, celulitis y miositis con necrosis. Varios de los primeros decesos en Louisiana y Texas después del huracán Catrina fueron ocasionados por *Vibrio vulnificus.* Dado el avance rápido de la infección, a menudo es necesario tratarla con antibióticos apropiados antes que se confirme la causa mediante cultivo. El diagnóstico se establece con el cultivo del microorganismo en medios estándar de laboratorio; TCBS es el medio preferido para los coprocultivos, donde la mayor parte de las cepas produce colonias color verde-azuloso (sacarosa negativas).

La tetraciclina al parecer es el antimicrobiano de elección para la infección por *V. vulnificus.* Ciprofloxacina también puede ser eficaz basándose en la actividad *in vitro*.

Otros vibrios diversos también producen enfermedad en el ser humano: *Vibrio mimicus* produce diarrea tras la ingestión de mariscos mal cocidos, sobre todo ostiones crudos. *Vibrio hollisae* y *Vibrio fluvialis* también producen diarrea. *Vibrio alginolyticus* es causa de infecciones oculares, óticas o de heridas tras la exposición al agua de mar. *Vibrio damsela* también produce infecciones de heridas. Otros vibrios son causas muy infrecuentes de enfermedad en el ser humano.

AEROMONAS

La taxonomía del género *Aeromonas* se encuentra en etapa de transición. Se ha ubicado al género en la nueva familia Aeromonadaceae de la familia Vibrionaceae. Basándose en los grupos de hibridación de DNA, se han reconocido muchas genoespecies; algunas son especies renombradas, otras han sido recién nombradas y algunas todavía no se nombran. Los siguientes tres grupos tienen principal importancia clínica en las infecciones humanas: complejo de *Aeromonas hydrophila,* complejo de *Aeromonas caviae* y *Aeromonas veronii* biovariedad *sobria*.

Las aeromonas tienen una longitud de 1 a 4 μm y son móviles. La morfología de su colonia es similar a la de los bacilos entéricos gramnegativos (cap. 15) y producen zonas grandes de hemólisis en agar sangre. Las especies del género *Aeromonas* cultivadas de muestras fecales se multiplican con facilidad en medios selectivos que se utilizan para cultivar bacilos entéricos gramnegativos y fácilmente pueden confundirse con bacterias entéricas. Las especies del género *Aeromonas* se distinguen de los bacilos entéricos gramnegativos por su reacción positiva con la oxidasa en el cultivo obtenido de una placa de agar sangre. Las especies del género *Aeromonas* se diferencian de los vibrios porque muestran resistencia al compuesto O/129 (véase antes) por la falta de crecimiento en medios que contienen NaCl al 6%.

Es característico que las aeromonas produzcan hemolisinas. Algunas cepas producen una enterotoxina. Se han identificado citotoxinas y la capacidad para invadir las células en el cultivo de tejido. Sin embargo, no se ha demostrado claramente que ninguna de estas características se relacione con enfermedades diarreicas en el ser humano. No se han cumplido los postulados de Koch, lo cual en gran parte se debe a que no se cuenta con un modelo animal adecuado que reproduzca la diarrea relacionada con aeromonas en el ser humano.

Las cepas de aeromonas son susceptibles a tetraciclinas, aminoglucósidos y cefalosporinas.

PLESIOMONAS

Plesiomonas shigelloides es un bacilo gramnegativo con flagelos polares. Plesiomonas es más frecuente en las regiones tropicales y subtropicales. Es un microorganismo acuático y del suelo y se ha aislado de peces de agua dulce y de muchos animales. Varias cepas en seres humanos han provenido de coprocultivos de pacientes con diarrea. Plesiomonas se multiplica en medios selectivos que se utilizan para aislar *Salmonella* y *Shigella* de muestras de heces (cap. 15). Algunas cepas de Plesiomonas comparten antígenos con *Shigella sonnei* y se presentan reacciones cruzadas con antisueros de *Shigella.* Las plesiomonas se pueden distinguir de las shigelas en las heces diarreicas por la prueba de oxidasa: plesiomonas es oxidasa positiva y las shigelas no. Plesiomonas es positiva para DNAasa; esta y otras pruebas bioquímicas la distinguen de aeromonas.

CAMPYLOBACTER

Los *Campylobacter* producen enfermedades diarreicas y generalizadas y figuran entre las causas más difundidas de infección en el mundo. La infección por *Campylobacter* de animales domésticos también es amplia. La clasificación de las bacterias de la familia Campylobacteriaceae se ha modificado con frecuencia. Algunas especies previamente clasificadas como *Campylobacter* se han reclasificado en el género *Helicobacter.* Se ha creado el gé-

nero *Arcobacter*. Los microorganismos que producen enfermedades intestinales o generalizadas se describen en esta sección. Más adelante, por separado, se describe *Helicobacter pylori* que produce una infección gástrica. *C. jejuni* es el microorganismo prototípico del grupo y es una causa muy frecuente de diarrea en el ser humano.

CAMPYLOBACTER JEJUNI Y CAMPYLOBACTER COLI

C. jejuni y *Campylobacter coli* han surgido como microorganismos patógenos humanos frecuentes y son causa principalmente de enteritis y a veces de infección generalizada. *C. jejuni* y *C. coli* producen infecciones que clínicamente son indistinguibles y los laboratorios por lo general no diferencian las dos especies. Entre 5 y 10% de las infecciones notificadas a causa de *C. jejuni* probablemente son causadas por *C. coli.* Estas bacterias son por lo menos tan frecuentes como las salmonelas y las shigelas como una causa de diarrea; en Estados Unidos se estima que cada año ocurren 2 millones de casos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

C. jejuni y los otros campylobacter son bacilos gramnegativos con formas de coma, S, o de "ala de gaviota" (fig. 17-3). Son móviles, con un solo flagelo polar y no forman esporas.

B. Cultivo

Las características de cultivo son muy importantes para el aislamiento y la identificación de *C. jejuni* y los otros campylobacter. Se necesitan medios selectivos y la incubación debe ser en una atmósfera con poco O_2 (O_2 al 5%) con CO_2 añadido (CO_2 al 10%). Una forma relativamente sencilla de producir la atmósfera de incubación es colocar las placas en un frasco para incubación de anaerobios sin el catalizador y producir el gas con un estuche generador de gas disponible en el comercio o mediante intercambio de gas. La incubación de las placas primarias para el aislamiento de *C. jejuni* debe ser a una temperatura de 42°C. Aunque *C. jejuni* se multiplica bien a una temperatura de 36 a 37°C, la incubación a una temperatura de 42°C impide la proliferación de la mayor parte de las otras bacterias presentes en las heces y por tanto simplifica la identificación de *C. jejuni.* Se utilizan ampliamente varios medios selectivos. El medio de Skirrow contiene vancomicina, polimixina B y trimetoprim para inhibir el crecimiento de otras bacterias. Otros medios selectivos también contienen antimicrobianos, como cefalotina o cefoperazona y compuestos inhibidores; puesto que contienen una cefalosporina, no permitirán la proliferación de *Campylobacter fetus* y de otras varias especies del género *Campylobacter*. Los medios selectivos son adecuados para el aislamiento de *C. jejuni* a una temperatura de 42°C; cuando los medios sin antibióticos se incuban a una temperatura de 36 a 37°C, se pueden aislar otros campylobacter. Las colonias tienden a ser incoloras o grises. Pueden ser acuosas y difusas o redondas y convexas y a veces los dos tipos de colonia aparecen en una placa con agar.

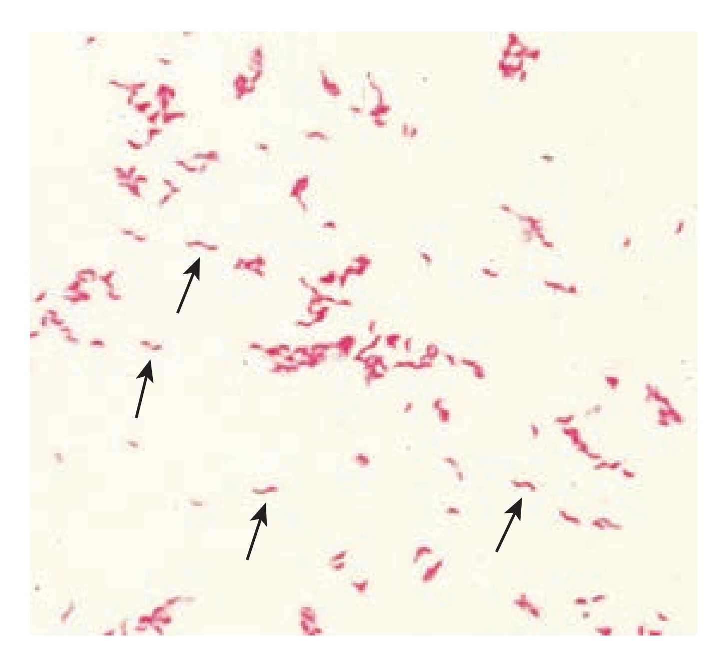


FIGURA 17-3 Tinción de Gram de *Campylobacter jejuni* que muestra los bacilos gramnegativos en forma de "coma" o "ala de gaviota" (*flechas*). Los campylobacter se tiñen débilmente y pueden ser difíciles de visualizar. Aumento original × 1 000.

C. Características de crecimiento

Por los medios selectivos y las condiciones de incubación para su multiplicación, por lo general se necesita una serie breve de pruebas para la identificación. *C. jejuni* y otros campylobacter patógenos para el ser humano son oxidasa y catalasa positivos. Los campylobacter no oxidan ni fermentan carbohidratos. Los frotis teñidos con tinción de Gram muestran características morfológicas típicas. La reducción con nitrato, la producción de sulfuro de hidrógeno, las pruebas de hipurato y las susceptibilidades a antimicrobianos se pueden utilizar para la identificación adicional de las especies.

Estructura antigénica y toxinas

Los campylobacter tienen lipopolisacáridos con actividad endotóxica. Se han detectado toxinas extracelulares citopáticas y enterotoxinas, pero no está bien definida la importancia de las toxinas en las enfermedades humanas.

Patogenia y anatomía patológica

La infección se adquiere por la vía oral proveniente de alimentos, bebidas o del contacto con animales infectados o productos animales. *C. jejuni* es susceptible al ácido gástrico y por lo general se necesita la ingestión de aproximadamente 10^4 microorganismos para producir la infección. Este inóculo es similar al que se necesita para la infección por *Salmonella* y *Shigella* pero es inferior al necesario para la infección por *Vibrio*. Los microorganismos proliferan en el intestino delgado, invaden el epitelio y producen inflamación que da por resultado la aparición de eritrocitos y leucocitos en las heces. A veces, la circulación sanguínea es invadida y se presenta un cuadro clínico de fiebre intestinal. Al parecer la invasión de tejido circunscrito junto con la actividad tóxica son la causa de la enteritis.

Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas son el inicio agudo de dolor abdominal tipo cólico, diarrea abundante que puede ser microscópicamente sanguinolenta, cefaleas, malestar y fiebre. Por lo general la enfermedad cede espontáneamente en un periodo de cinco a ocho días, pero a veces continúa por más tiempo. Las cepas de *C. jejuni* suelen ser susceptibles a la eritromicina y el tratamiento abrevia la duración de la eliminación de las bacterias en las heces. Casi todos los casos se resuelven sin tratamiento antimicrobiano.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las heces diarreicas suelen ser la muestra. Los campylobacter de otros tipos de muestras suelen ser hallazgos incidentales o se detectan en el contexto de brotes epidémicos de la enfermedad.

B. Frotis

Los frotis de las heces con tinción de Gram pueden mostrar los bacilos típicos en forma de "ala de gaviota". La microscopia electrónica de campo oscuro o de contraste de fase puede mostrar la movilidad rápida característica de los microorganismos.

C. Cultivo

El cultivo en los medios selectivos antes descritos es la prueba definitiva para diagnosticar enteritis por *C. jejuni.* Si se sospecha otra especie de *Campylobacter,* se debe utilizar el medio sin una cefalosporina e incubarse a una temperatura de 36 a 37°C.

Epidemiología y control

La infección por *Campylobacter enteritis* se parece a otras diarreas bacterianas agudas, sobre todo la disentería por *Shigella.* La fuente de la infección puede ser el alimento (p. ej., leche, pollo mal cocido) o el contacto con animales infectados o seres humanos y sus excretas. Los brotes que se originan de una fuente común, por ejemplo, leche no pasteurizada, requieren medidas de control de salud pública.

CAMPYLOBACTER FETUS

C. fetus subespecie *fetus* es un microorganismo patógeno oportunista que produce infecciones generalizadas en los pacientes inmunodeprimidos. A veces es causa de diarrea. El tubo digestivo puede ser la vía de entrada cuando *C. fetus* produce bacteriemia e infección sistémica. *C. fetus* tiene varias proteínas dispuestas en la superficie (proteína S, peso molecular de 100 000 a 149 000) que forman una estructura capsular en la superficie del microorganismo (en comparación con las cápsulas de polisacáridos de microorganismos patógenos como *Neisseria meningitidis* y *Streptococcus pneumoniae*). En un modelo de ratón de infección por *C. fetus,* la presencia de la proteína S como una cápsula de superficie se correlacionó con la capacidad de las bacterias para producir bacteriemia después de la provocación oral y produce la muerte en un elevado porcentaje de los animales.

OTROS CAMPYLOBACTER

Otras especies de *Campylobacter* además de *C. jejuni* pocas veces se detectan. Esto se debe en parte a los métodos estándar que se utilizan para el aislamiento de *Campylobacter* de muestras fecales: incubación a una temperatura de 42°C y el uso de medios que contienen una cefalosporina. *Campylobacter lari* suele encontrarse en gaviotas y a veces produce diarrea en el ser humano. *Campylobacter upsaliensis* de los perros a veces produce diarrea en el ser humano. *Helicobacter fennelliae* y *Helicobacter cinaedi* pueden causar enfermedades diarreicas o extraintestinales. Las especies del género *Arcobacter* son microorganismos patógenos intestinales infrecuentes.

HELICOBACTER PYLORI

Helicobacter pylori es un bacilo gramnegativo en forma de espiral y se relaciona con gastritis del antro, úlceras duodenales (pépticas), úlceras gástricas y carcinoma gástrico. Existen otras especies del género *Helicobacter* que infectan la mucosa gástrica pero son infrecuentes.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

H. pylori tiene muchas características en común con los campylobacter. Tiene múltiples flagelos en un polo y es móvil.

B. Cultivo

La sensibilidad en el cultivo puede limitarse por el tratamiento previo, la contaminación con otras bacterias de la mucosa y otros factores. *H. pylori* se multiplica en un lapso de tres a seis días cuando se incuba a una temperatura de 37°C en un medio microaerofílico, al igual que *C. jejuni.* Los medios para el aislamiento primario son el medio de Skirrow con vancomicina, polimixina B y trimetoprim, medios de chocolate y otros medios selectivos con antibióticos (p. ej., vancomicina, ácido nalidíxico, anfotericina). Las colonias son translúcidas y tienen un diámetro de 1 a 2 mm.

C. Características de crecimiento

H. pylori es oxidasa y catalasa positivo, tiene una morfología característica, es móvil y es un productor potente de ureasa.

Patogenia y anatomía patológica

H. pylori se multiplica en condiciones óptimas a un pH de 6.0 a 7.0 y se destruiría o no se multiplicaría con el pH presente dentro de la luz gástrica. El moco gástrico es relativamente impermeable al ácido y tiene una potente capacidad amortiguadora. En el extremo luminal del moco, el pH es bajo (1.0 a 2.0), en tanto que en el lado epitelial el pH es de casi 7.4. *H. pylori* se aloja en partes profundas de la capa mucosa cerca de la superficie epitelial donde existe un pH fisiológico. *H. pylori* también produce una proteasa que modifica el moco gástrico y reduce más la capacidad del ácido para difundirse a través del moco. *H. pylori* tiene una potente actividad de ureasa, lo que genera amoniaco y amortigua más el ácido. *H. pylori* es muy móvil, incluso

en moco, y puede abrirse camino hacia la superficie epitelial. El microorganismo se encuentra superpuesto a las células epiteliales de tipo gástrico pero no a las de tipo intestinal.

En voluntarios humanos, la ingestión de *H. pylori* produjo la aparición de gastritis e hipoclorhidria. Hay una intensa relación entre la infección por *H. pylori* y la ulceración duodenal. El tratamiento antimicrobiano produce la eliminación de *H. pylori* y mejora la gastritis y la úlcera duodenal.

Los mecanismos por los cuales *H. pylori* produce inflamación de la mucosa y lesión no están bien definidos pero probablemente implican factores tanto bacterianos como del hospedador. Las bacterias invaden las superficies de la célula epitelial en un grado limitado. Las toxinas y los lipopolisacáridos pueden lesionar las células de la mucosa y el amoniaco producido por la actividad de la ureasa puede también dañar directamente las células.

En el examen histológico la gastritis se caracteriza por inflamación crónica y activa. Se observan infiltrados de células polimorfonucleares y mononucleares dentro del epitelio y la lámina propia. Las vacuolas en el interior de las células suelen ser abundantes. Es frecuente la destrucción del epitelio y puede ocurrir atrofia glandular. Por consiguiente, *H. pylori* constituye un factor de riesgo importante para el cáncer gástrico.

Manifestaciones clínicas

La infección aguda puede producir una enfermedad del tubo digestivo alto con náusea y dolor; en ocasiones también hay vómito y fiebre. Los síntomas agudos pueden persistir durante menos de una semana o hasta por dos semanas. Una vez que ha colonizado, la infección por *H. pylori* persiste por años y tal vez decenios o incluso durante toda una vida. Casi 90% de los pacientes con úlceras duodenales y 50 a 80% de los que padecen úlceras gástricas tienen infección por *H. pylori. H. pylori* también juega un papel en el carcinoma gástrico y en el linfoma.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Se pueden usar las muestras de biopsia gástrica para el examen histológico o triturarse en solución salina y utilizarse para cultivo. Se obtiene sangre para determinar los anticuerpos séricos.

B. Frotis

El diagnóstico de gastritis e infección por *H. pylori* se puede establecer mediante el estudio histológico. Es necesario un procedimiento gastroscópico con obtención de biopsia. Las tinciones sistemáticas muestran gastritis y las tinciones de Giemsa o de plata especiales muestran los microorganismos curvos o espirales.

C. Cultivo

Igual que en el caso anterior.

D. Anticuerpos

Se han desarrollado varios análisis para detectar anticuerpos séricos específicos contra *H. pylori.* Los anticuerpos séricos persisten aun cuando se erradique la infección por *H. pylori* y por tanto es limitado el papel de las pruebas de anticuerpo en el diagnóstico de la infección activa o después del tratamiento.

E. Pruebas especiales

Las pruebas rápidas para detectar actividad de ureasa tienen una amplia distribución para la identificación presuntiva de *H. pylori* en muestras. El material de biopsia gástrica se coloca en un medio que contenga urea con un indicador de color. Si está presente *H. pylori,* la ureasa rápidamente desdobla la urea (uno a dos días) y el cambio resultante en el pH produce un cambio de color en el medio. También se pueden realizar pruebas *in vivo* para la actividad de la ureasa. El paciente ingiere urea marcada con C^{13} o C^{14}. Si *H. pylori* está presente, la actividad de la ureasa genera CO_2 marcado que se puede detectar en el aliento exhalado del paciente.

La detección de antígeno de *H. pylori* en las muestras fecales es apropiada como una prueba de curación en los pacientes con infección conocida por *H. pylori* que se han tratado.

Inmunidad

Los pacientes infectados por *H. pylori* presentan una respuesta de anticuerpo IgM a la infección. Después, se producen IgG e IgA y persisten, tanto generalizados como en la mucosa en títulos elevados en las personas con infección crónica. El tratamiento antimicrobiano inicial de la infección por *H. pylori* reduce la respuesta de anticuerpos; se considera que estos pacientes están sujetos a una recidiva de la infección.

Tratamiento

El tratamiento triple con metronidazol y subsalicilato de bismuto o subcitrato de bismuto más amoxicilina o tetraciclina durante 14 días permite erradicar la infección por *H. pylori* en 70 a 95% de los pacientes. Un fármaco supresor de ácido administrado durante cuatro a seis semanas favorece la cicatrización de la úlcera. Los inhibidores de la bomba de protones inhiben directamente *H. pylori* y al parecer son potentes inhibidores de la ureasa. También es muy eficaz un inhibidor de la bomba de protones más amoxicilina y claritromicina o de amoxicilina más metronidazol durante una semana.

Epidemiología y control

H. pylori está presente en la mucosa gástrica de menos de 20% de las personas menores de 30 años pero aumenta su prevalencia a 40 a 60% en las personas de 60 años de edad, incluidas las que no tienen síntomas. En los países en vías de desarrollo, la prevalencia de la infección puede ser 80% o más alta en los adultos. Es posible la transmisión de *H. pylori* de persona a persona porque ocurre un agrupamiento intrafamiliar de la infección. La epidemia aguda de gastritis indica una fuente común de *H. pylori.*

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Es más probable que se presente el estado de portador crónico y la eliminación del microorganismo después de la infección gastrointestinal por cuál de las siguientes especies
   (A) *Escherichia coli* O157:H7
   (B) *Shigella dysenteriae*
   (C) *Vibrio cholerae*
   (D) *Campylobacter jejuni*
   (E) *Salmonella typhi*

2. Un varón de 63 años de edad ha visitado su restaurante de ostiones favorito en una pequeña ciudad de la orilla oriental de la costa del Golfo de Texas. Comió dos docenas de ostiones. Dos días más tarde ingresó al hospital por inicio brusco de escalofríos, fiebre y mareos al ponerse de pie. (En el servicio de urgencias, su presión arterial era 60/40 mmHg.) Mientras estaba en el servicio de urgencias, presentó lesiones cutáneas eritematosas. Éstas evolucionaron rápidamente a ampollas hemorrágicas, las cuales luego formaron úlceras. El paciente ingiere seis latas de cerveza y media botella de whisky al día. Un microorganismo de interés importante en este paciente es
   (A) *Vibrio vulnificus*
   (B) *Escherichia coli*
   (C) *Salmonella typhi*
   (D) *Clostridium perfringens*
   (E) *Streptococcus pyogenes* (estreptococos del grupo A)
3. Un niño de 10 años de edad estaba jugando en un arroyo de corriente lenta cuando se hirió su pie con un objeto cortante. Tres días después fue llevado al servicio de urgencias porque presentaba dolor y edema en el lugar de la herida y salida de pus en la misma. La causa más probable de la infección es
   (A) *Vibrio vulnificus*
   (B) *Escherichia coli*
   (C) *Aeromonas hydrophila*
   (D) *Proteus mirabilis*
   (E) *Salmonella typhimurium*
4. Una familia de cuatro personas consumió una comida que incluía pollo mal cocido. A los tres días, tres miembros de la familia presentaron una enfermedad caracterizada por fiebre, cefalea, mialgias y ataque al estado general. Dos de los pacientes tenían diarrea y dolor abdominal concomitantes. La tercera persona presentó diarrea después de haber cedido los síntomas generales. Los coprocultivos produjeron *Campylobacter jejuni.* ¿Cuál de las siguientes condiciones de cultivo tenía más posibilidades de aislar *Campylobacter jejuni*?
   (A) Medio de tiosulfato-citrato-bilis-sacarosa incubado a una temperatura de 37°C en oxígeno al 5% y en CO_2 al 10%
   (B) Medio selectivo de *Salmonella-Shigella* incubado a una temperatura de 37°C en aire ambiental
   (C) Agar de MacConkey y agar entérico de Hektoen incubado a una temperatura de 42°C en oxígeno al 5% y CO_2 a 10%
   (D) Agar de sangre de carnero al 5% incubado a una temperatura de 37°C en aire ambiente
   (E) Un medio que contiene vancomicina, polimixina B y trimetoprim incubado a una temperatura de 42°C en oxígeno al 5% y CO_2 al 10%
5. ¿Con cuál de los siguientes microorganismos es más probable que se presente la bacteriemia relacionada con infección del tubo digestivo?
   (A) *Salmonella typhi*
   (B) *Vibrio cholerae*
   (C) *Shigella boydii*
   (D) *Vibrio parahaemolyticus*
   (E) *Campylobacter jejuni*
6. Durante los años de El Niño de mediados a finales de la década de 1990, las aguas de Puget Sound entre el estado de Washington y British Columbia se calentaron considerablemente. Durante esta época, muchas personas que comían almejas y ostiones de estas aguas presentaron una enfermedad caracterizada por diarrea explosiva y cólicos moderadamente graves. La diarrea por lo general era líquida, pero en algunos pacientes era sanguinolenta. Por lo general tenía un inicio en las primeras 24 h después de consumir el marisco. Los coprocultivos solían producir un bacilo gramnegativo patógeno. En estas circunstancias el microorganismo de interés es
   (A) *Escherichia coli* enterotoxígena
   (B) *Vibrio cholerae*
   (C) *Escherichia coli* enterohemorrágica
   (D) *Vibrio parahaemolyticus*
   (E) *Shigella dysenteriae*
7. Un paciente acude a la sala de urgencias con diarrea no sanguinolenta de 12 h de evolución. El paciente vive en Washington DC, y últimamente no ha viajado fuera de la zona. ¿Cuál de las siguientes es una causa *improbable* de la diarrea de este paciente?
   (A) *Salmonella typhimurium*
   (B) *Campylobacter jejuni*
   (C) *Shigella sonnei*
   (D) *Vibrio cholerae*
8. Una mujer de 18 años de edad en una zona rural de Bangladesh presenta diarrea abundante (8 L/día). No tiene otros síntomas además de la diarrea y las manifestaciones de la pérdida de líquidos y electrólitos producidas por la diarrea. La causa más probable de su diarrea es
   (A) *Campylobacter jejuni*
   (B) *Escherichia coli* enterotoxígena
   (C) *Salmonella typhimurium*
   (D) *Vibrio cholerae*
   (E) *Shigella dysenteriae*
9. La edad y la geografía son factores importantes en la prevalencia de la colonización por *Helicobacter pylori.* En los países en vías de desarrollo, la prevalencia de la colonización puede ser de >80% en los adultos. En Estados Unidos, la prevalencia de la colonización por este microorganismo en los adultos mayores de 60 años de edad es
   (A) 1 a 2%
   (B) 5 a 10%
   (C) 15 a 20%
   (D) 40 a 60%
   (E) 80 a 95%
10. Un varón de 59 años de edad acude al servicio de urgencias por la tarde después de presentar edema agudo y dolor en la pierna derecha. Por la mañana había estado trabajando en un pequeño bote de pesca deportiva en un estuario en la costa del Golfo de Texas. Mientras caminaba alrededor del bote en aguas superficiales, se rasguñó la pierna, hiriéndose la piel en el lugar del dolor y el edema que presenta en la actualidad. No utilizaba botas. Después de una hora de la lesión, el rasguño se tornó eritematoso y doloroso. Se presentó edema. Al cabo de 3 h, la pierna por debajo de la rodilla tenía un edema importante. La piel estaba eritematosa y dolorosa. La herida presentaba una secreción serosa, se había ulcerado y ahora estaba muy aumentada de tamaño. Cerca de la herida se estaban formando ampollas, la más grande de aproximadamente 2.5 cm de diámetro. La causa más probable de esta urgencia médica es
    (A) *Staphylococcus aureus*
    (B) *Streptococcus pyogenes*
    (C) *Clostridium perfringens*
    (D) *Escherichia coli*
    (E) *Vibrio vulnificus*
11. El factor de *Vibrio cholerae* causante de la diarrea es una toxina que
    (A) Bloquea EF-2
    (B) Produce mayores concentraciones intracelulares de cAMP
    (C) Desdobla SNARE
    (D) Bloquea la fijación de amino-acil-tRNA a los ribosomas dependiente de EF-1
    (E) Desdobla VAMP

12. En septiembre de 1854, se presentó una epidemia de cólera grave en la zona de Soho/Golden Square en Londres. El Dr. John Show, padre de la epidemiología, estudió la epidemia y ayudó a detenerla. ¿Cuál de las siguientes medidas utilizó?
    (A) Prohibió la venta de manzanas en los mercados locales
    (B) Retiró el mango de la bomba de agua de Broad Street
    (C) Detuvo la venta de mariscos importados de Normandía
    (D) Pasteurizó la leche

13. Un varón de 45 años de edad presenta una úlcera gástrica que se visualiza en una radiografía del estómago intensificada con medio de contraste. Se toma una biopsia de la mucosa gástrica en el lugar de la úlcera. ¿En cuál de los siguientes medios se puede establecer un diagnóstico presuntivo muy rápidamente mediante la inoculación de la muestra?
    (A) Un medio utilizado para detectar ureasa incubado a una temperatura de 37°C
    (B) Un medio que contenga vancomicina, polimixina B y trimetoprim incubado a una temperatura de 42°C
    (C) Agar de MacConkey incubado a una temperatura de 37°C
    (D) Medio de tiosulfato-citrato-bilis-sacarosa incubado a una temperatura de 42°C
    (E) Agar sangre incubado a una temperatura de 37°C

14. ¿Cuál de los siguientes es útil para distinguir entre especies del género *Vibrio* y especies del género *Aeromonas*?
    (A) Multiplicación o no multiplicación en un medio que contenga NaCl
    (B) La presencia o ausencia de la endotoxina en la pared celular
    (C) La producción o falta de producción de una enterotoxina termolábil
    (D) Positividad o negatividad en la prueba de invasión del enterocito

15. En Estados Unidos, las autoridades de salud pública a menudo advierten a las personas que cocinen minuciosamente el pollo que compran en supermercados y tiendas. ¿Qué porcentaje de los pollos obtenidos de estas fuentes posiblemente está contaminado con *Campylobacter jejuni*?
    (A) 1 a 5%
    (B) 6 a 15%
    (C) 15 a 30%
    (D) 30 a 50%
    (E) >50%

Respuestas

1. E	5. A	9. D	13. A
2. A	6. D	10. E	14. A
3. C	7. D	11. B	15. E
4. E	8. D	12. B	

BIBLIOGRAFÍA

Abbott SL, Janda JM, Johnson JA Farmer JJ III: Vibrio. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Allos BM, Blaser MJ: *Campylobacter jejuni* and related species. In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editor). Elsevier, 2010.

Blaser MJ: *Helicobacter pylori and other gastric Helicobacter species*. In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.

Fitzgerald C, Nachamkin I: *Campylobacter* and *Arcobacter. In: Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Fox JG, Megraud F: *Helicobacter*. In: *Manual of Clinical Microbiology,* 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Horneman AJ, Ali A, Abbott SL: *Aeromonas*. In: *Manual of Clinical Microbiology,* 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Neill MA, Carpenter CCJ: Other pathogenic vibrios. In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.

Seas C, Gotuzzo E: *Vibrio cholerae*. In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.

Steinberg JP, Burd EM: Other gram-negative and gram-variable bacilli. In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.

CAPÍTULO

18

Haemophilus, Bordetella, Brucella y Francisella

BACTERIAS DEL GÉNERO *HAEMOPHILUS*

Este es un grupo de pequeñas bacterias polimorfas gramnegativas que necesitan medios enriquecidos, que por lo general contienen sangre o sus derivados, para su aislamiento. *Haemophilus influenzae* de tipo B es un microorganismo patógeno importante en el ser humano. *Haemophilus ducreyi,* también es un microorganismo patógeno, de transmisión sexual, produce chancroide; otras bacterias del género *Haemophilus* forman parte de la microflora normal de la mucosa y sólo algunas veces producen enfermedad.

HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Haemophilus infuenzae se detecta en las mucosas de las vías respiratorias altas en el ser humano. Es una causa importante de meningitis en los niños y puede causar infecciones respiratorias en niños y adultos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

En las muestras de infecciones agudas, los microorganismos son bacilos cocoides cortos (1.5 μm), que a veces se encuentran en pares o cadenas cortas. En los cultivos, la morfología depende de la edad y del medio. A las 6 a 8 h en un medio enriquecido, predominan las formas cocobacilares pequeñas. Más tarde hay bacilos más largos, bacterias que experimentan lisis y muchas variantes polimorfas.

Los microorganismos en cultivos jóvenes (6 a 18 h) en un medio enriquecido tienen una cápsula definida. La cápsula es el antígeno que se utiliza para la "tipificación" de *H. influenzae* (véase adelante).

B. Cultivo

En agar chocolate se presentan colonias planas de color pardo grisáceo con diámetros de 1 a 2 mm después de 24 h de incubación. IsoVitaleX en los medios de cultivo favorece la multiplicación. *H. influenzae* no se multiplica en agar sangre de cordero, excepto alrededor de colonias de estafilococos ("fenómeno satélite"). *H. haemolyticus* y *H. parahaemolyticus* son variantes hemolíticas de *H. influenzae* y *H. parainfluenzae,* respectivamente.

C. Características de crecimiento

La identificación de los microorganismos del grupo *Haemophilus* depende en parte de demostrar la necesidad de determinados factores de crecimiento denominados X y V. El factor V tiene una acción fisiológica parecida a la hemina; el factor V se puede remplazar con nucleótido de nicotinamida y adenina (NAD, *nicotinamide adenine nucleotide*) u otras coenzimas. Las colonias de estafilococos en agar sangre de oveja producen la liberación de NAD y generan el fenómeno de crecimiento satélite. En el cuadro 18-1 se enumeran las necesidades de factores X y V de diversas especies del género *Haemophilus.* Los hidratos de carbono se fermentan en forma deficiente e irregular.

D. Variación

Además de la variación morfológica, *H. influenzae* muestra una notable tendencia a perder su cápsula y la especificidad de tipo asociada. Las colonias de variantes no encapsuladas carecen de iridiscencia.

E. Transformación

En circunstancias experimentales apropiadas, el DNA extraído de un determinado tipo de *H. influenzae* puede transferir la especificidad de tipo a otras células (transformación). La resistencia a la ampicilina y al cloranfenicol es controlada por los genes en plásmidos transmisibles.

Estructura antigénica

H. influenzae encapsulado contiene **polisacáridos capsulares** (PM > 150 000) de uno de seis tipos (a a f). El antígeno capsular de tipo b es un fosfato de polirribosa-ribitol (PRP, *polyribose ribitol phosphate*). *H. influenzae* encapsulado se puede tipificar mediante aglutinación en portaobjetos, coaglutinación con estafilococos o aglutinación de partículas de látex recubiertas con anticuerpos de tipo específico. Una prueba de hinchazón de la cápsula con antisuero específico es análoga a la prueba correspondiente que se utiliza para los neumococos. También se puede llevar a cabo la tipificación mediante inmunofluorescencia. La mayor parte de los microorganismos de la especie *H. influenzae*

CUADRO 18-1 Características y necesidades de cultivo de bacterias del género *Haemophilus* importantes para el ser humano

Especie	Necesita X	Necesita V	Hemólisis
Haemophilus influenzae (H. aegyptius)	+	+	–
Haemophilus parainfluenzae	–	+	–
Haemophilus ducreyi	+	–	–
Haemophilus haemolyticus	+	+	+
Aggregatibacter aphrophilus[a]	–	–	–
Haemophilus paraphrophaemolyticus	–	+	+
Haemophilus segnis	–	+	–

X, hem; V, dinucleótido de nicotinamida y adenina.

[a]Ahora denominado *Aggregatibacter*.

en la microflora normal de las vías respiratorias altas no están encapsulados.

Los antígenos somáticos de *H. influenzae* constan de proteínas de membrana externa. Los lipopolisacáridos (endotoxinas) comparten muchas estructuras con los de las neisserias.

Patogenia

H. influenzae no produce exotoxina. El microorganismo no encapsulado es un miembro regular de la microflora respiratoria normal del ser humano. La cápsula es antifagocítica cuando no hay anticuerpos anticapsulares específicos. La cápsula de fosfato de polirribosa de *H. influenzae* tipo b es el principal factor de virulencia.

La frecuencia de estado de portador en las vías respiratorias altas para *H. influenzae* tipo b es de 2 a 4%. La tasa de portador para *H. influenzae* no tipificable es 50 a 80% más alta. *H. influenzae* tipo b produce meningitis, neumonía y empiema, epiglotitis, celulitis, artritis séptica y a veces otras formas de infección invasiva. *H. influenzae* no tipificable tiende a producir bronquitis crónica, otitis media, sinusitis y conjuntivitis después de la destrucción de los mecanismos de defensa normales del hospedador. La tasa de portador para los tipos encapsulados a y c a f es baja (1 a 2%) y estos tipos capsulares pocas veces producen enfermedad. Aunque el tipo b puede ser causa de bronquitis crónica, otitis media, sinusitis y conjuntivitis, las produce con menor frecuencia que *H. influenzae* no tipificable. Asimismo, *H. influenzae* no tipificable sólo a veces produce enfermedad invasiva (alrededor de 5% de los casos).

La sangre de muchas personas mayores de tres a cinco años de edad es bactericida para *H. influenzae* y las infecciones clínicas son menos frecuentes en ellas. Sin embargo, no se detectan anticuerpos bactericidas en 25% de los adultos estadounidenses y se han presentado infecciones clínicas en adultos.

Manifestaciones clínicas

H. influenzae tipo b entra a través del sistema respiratorio. Puede haber una diseminación local con afectación de los senos paranasales o el oído medio. *H. influenzae* tipo b y los neumococos son dos de los microorganismos más frecuentes de otitis media bacteriana y sinusitis aguda. Los microorganismos pueden llegar a la circulación sanguínea y ser transportados a las meninges o, con menor frecuencia, se pueden establecer en las articulaciones para producir artritis séptica. Antes del empleo de la vacuna conjugada, *H. influenzae* fue la causa más frecuente de meningitis bacteriana en niños de cinco meses a cinco años de edad en Estados Unidos. Se parece clínicamente a otras formas de meningitis infantil y el diagnóstico se basa en la demostración bacteriológica del microorganismo.

A veces se presenta una laringotraqueítis obstructiva fulminante con epiglotis edematosa y de color rojo cereza en los lactantes que obliga a una traqueostomía inmediata o intubación como procedimiento para salvar la vida del paciente. La neumonitis y la epiglotitis por *H. influenzae* pueden presentarse después de infecciones respiratorias altas en los niños pequeños y en personas ancianas o debilitadas. Los adultos pueden tener bronquitis o neumonía a consecuencia de *H. influenzae.*

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras consisten en frotis de secreción nasofaríngea, pus, sangre y líquido cefalorraquídeo de frotis y cultivos.

B. Identificación directa

Se dispone de estuches comerciales para la detección inmunológica de antígenos de *H. influenzae* en el líquido cefalorraquídeo. Una prueba positiva indica que el líquido tiene altas concentraciones de polisacárido específico de *H. influenzae* tipo b. Estas pruebas de detección de antígeno por lo general no son más sensibles que una tinción de Gram y por tanto no se usan ampliamente. En la figura 18-1 se ilustra una tinción de Gram de *H. influenzae* en esputo.

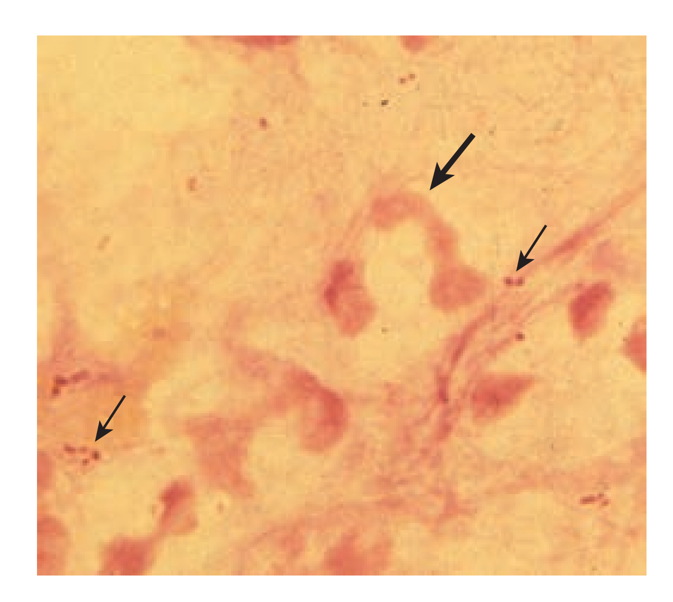


FIGURA 18-1 Tinción de Gram de *Haemophilus influenzae* en el esputo. Los microorganismos son cocobacilos gramnegativos (*flechas pequeñas*) muy pequeñas (0.3 × 1 µm). Los objetos grandes de forma irregular (*flecha grande*) son los núcleos de las células polimorfonucleares. El moco está débilmente teñido de rosa en el fondo.

C. Cultivo

Se cultivan las muestras en agar chocolate enriquecido con IsoVitaleX hasta que aparecen las colonias características. *H. influenzae* se diferencia de los bacilos gramnegativos relacionados por sus necesidades de factores X y V y por su falta de hemólisis en agar sangre (cuadro 18-1).

Las pruebas para necesidades de factor X (hem) y V (dinucleótido de nicotinamida y adenina) pueden realizarse de diversas maneras. Las bacterias del género *Haemophilus* que necesitan factor V se multiplican alrededor de tiras de papel o discos que contienen factor V colocado en la superficie de agar que se han procesado en autoclave antes de añadir la sangre (el factor V es termolábil). Como alternativa, se puede colocar una tira que contenga factor X en paralelo con otra que contenga factor V en agar deficiente en estos nutrimentos. La multiplicación de *Haemophilus* en la zona de respuesta entre las tiras indica la necesidad de los dos factores. Una mejor prueba para la necesidad de factor V se basa en la incapacidad de *H. influenzae* y algunas otras especies del género *Haemophilus* de sintetizar hem a partir del ácido δ-aminolevulínico. El inóculo se incuba con ácido δ-aminolevulínico. Los microorganismos del género *Haemophilus* que no necesitan factor X sintetizan porfobilinógeno, porfirinas, protoporfirina IX y hem. La presencia de fluorescencia roja bajo la luz ultravioleta (aproximadamente 360 nm) indica que hay porfirinas y es una prueba positiva. Las bacterias del género *Haemophilus* que sintetizan porfirinas (y por tanto hem) no son *H. influenzae* (cuadro 18-1).

Inmunidad

Los lactantes menores de tres meses pueden tener anticuerpos séricos transmitidos por la madre. Durante este periodo es poco común la infección por *H. influenzae,* pero después se pierden los anticuerpos. Los niños a menudo adquieren infecciones por *H. influenzae,* que suelen ser asintomáticas pero que pueden adoptar la forma de enfermedades respiratorias o meningitis. *H. influenzae* ha sido la causa más frecuente de meningitis bacteriana en niños de cinco meses a cinco años de edad. Entre los tres y cinco años de edad, muchos niños no inmunizados adquieren de forma natural anticuerpos contra-PRP que favorecen la destrucción bactericida dependiente de complemento y la fagocitosis. La inmunización de los niños con vacuna conjugada de *H. influenzae* tipo b induce a la formación de los mismos anticuerpos.

Existe una correlación entre los anticuerpos bactericidas presentes y la resistencia a las infecciones importantes por *H. influenzae* tipo b. Sin embargo, no se sabe si estos anticuerpos en sí contribuyen a la inmunidad. Los adultos con estos anticuerpos pueden presentar neumonía o la artritis por *H. influenzae*.

Tratamiento

La tasa de mortalidad de la meningitis por *H. influenzae* no tratada puede ascender a 90%. Muchas cepas de *H. influenzae* tipo b son susceptibles a la ampicilina, pero hasta 25% producen lactamasa β bajo control de un plásmido trasmisible y son resistentes. Básicamente todas las cepas son susceptibles a la cefalosporina de tercera generación. La cefotaxima administrada por vía intravenosa produce resultados excelentes. El diagnóstico inmediato y el tratamiento antimicrobiano son esenciales para disminuir la alteración neurológica y mental tardía. Entre las complicaciones tardías de la meningitis por *H. influenzae* tipo b destacan la aparición de una acumulación subdural circunscrita de líquido que exige drenaje quirúrgico.

Epidemiología, prevención y control

H. influenzae tipo b encapsulado se transmite entre personas por vía respiratoria. La infección por *H. influenzae* tipo b puede prevenirse mediante la administración de la **vacuna conjugada de *Haemophilus* b** aplicada a los niños. En la actualidad se dispone de tres vacunas conjugadas: PRPHbOC en la cual el conjugado es CRM197, una toxina diftérica no tóxica; PRP-OMPC, complejo de proteína de la membrana externa de *Neisseria meningitidis*; y PRP-T, que utiliza toxoide tetánico. A partir de los dos meses de edad, a todos los niños se les debe inmunizar con una de las vacunas conjugadas. Dependiendo de la vacuna que se escoja, la serie consta de tres dosis que se administran a los dos, cuatro y seis meses de edad o dos dosis que se administran a los dos y a los cuatro meses. En ocasiones se administra una dosis de refuerzo adicional entre los 12 y los 15 meses de edad. Todas estas vacunas conjugadas se pueden aplicar al mismo tiempo que la administración de otras vacunas como DTaP. El empleo generalizado de la vacuna de *H. influenzae* tipo b ha reducido la frecuencia de meningitis en más del 95% por el mismo microorganismo en los niños. La vacuna reduce las tasas de portador de *H. influenzae* tipo b. El contacto con los pacientes que padecen una infección clínica por *H. influenzae* plantea escaso riesgo para los adultos pero constituye un riesgo definido para los hermanos no inmunes y otros niños no inmunes menores de cuatro años de edad que son contactos cercanos del paciente. En estos niños se recomienda la profilaxis con rifampicina.

HAEMOPHILUS AEGYPTIUS

Este microorganismo anteriormente se denominaba bacilo de Koch-Weeks; a veces se denomina *H. influenzae* biotipo III, pero la designación actual es *H. influenzae* biogrupo *aegyptius*. Es muy parecido a *H. influenzae* y se relaciona con una forma de conjuntivitis muy contagiosa. *H. aegyptius* es la causa de la fiebre purpúrica brasileña, una enfermedad de los niños que se caracteriza por fiebre, púrpura, choque y muerte del paciente.

AGGREGATIBACTER APHROPHILUS

Los microorganismos que pertenecen a las especies *Haemophilus aphrophilus* y *Haemophilus paraphrophilus* en tiempos recientes se combinaron para integrar la misma especie y se modificó el nombre a *Aggregatibacter aphrophilus.* También se ha añadido *Actinobacillus actinomycetemcomitans* al género *Aggregatibacter.* Las cepas de *A. aphrophilus* suelen detectarse como causas de endocarditis infecciosa y neumonía. Estos microorganismos están presentes en la cavidad oral como parte de la microflora respiratoria normal.

HAEMOPHILUS DUCREYI

Haemophilus ducreyi produce el chancroide (chancro blando), una enfermedad de transmisión sexual. El chancroide consiste en una úlcera rasgada en los genitales, con edema e hiperalgesia

dolorosa intensos. Los ganglios linfáticos regionales están aumentados de tamaño y son dolorosos. La enfermedad debe distinguirse de la sífilis, la infección por el herpes simple y el linfogranuloma venéreo.

Los bacilos gramnegativos pequeños se encuentran en cordones en las lesiones, por lo general acompañados por otros microorganismos piógenos. *H. ducreyi* necesita factor X pero no factor V. Se multiplica mejor en los raspados de la base de la úlcera en agar chocolate que contiene IsoVitaleX al 1% y vancomicina, 3 μg/ml, e incubados en CO_2 al 10% a una temperatura de 33°C. No hay inmunidad permanente después de la infección por chancroide. El tratamiento con ceftriaxona intramuscular, trimetoprim-sulfametoxazol oral o eritromicina oral a menudo produce la cicatrización en dos semanas.

OTRAS BACTERIAS DEL GÉNERO *HAEMOPHILUS*

Haemophilus haemoglobinophilus necesita factor X pero no factor V y se ha detectado en perros pero no en enfermedades humanas. *Haemophilus haemolyticus* es el microorganismo hemolítico más marcado del grupo *in vitro*; se distribuye tanto en la nasofaringe normal como en relación con infecciones poco comunes del aparato respiratorio de gravedad moderada en los niños. *Haemophilus parainfluenzae* se parece a *H. influenzae* y es un residente normal del aparato respiratorio humano; se ha detectado de manera esporádica en la endocarditis infecciosa y en la uretritis. *H. suis* se parece a *H. influenzae* desde el punto de vista bacteriológico y tiene una acción sinérgica con el virus de la influenza porcina para producir la enfermedad en cerdos.

BORDETELLA

Hay varias especies del género *Bordetella. Bordetella pertussis,* un microorganismo patógeno muy contagioso e importante en el ser humano, produce tos ferina. *Bordetella parapertussis* puede producir una enfermedad muy similar. *Bordetella bronchiseptica* (*Bordetella bronchicanis*) produce enfermedad en animales como la tos de los perros y de los conejos, y sólo a veces produce enfermedad respiratoria y bacteriemia en el ser humano, principalmente en hospedadores inmunodeficientes. *Bordetella avium* produce la coriza de los pavos y se sabe que infecta al ser humano. Especies más nuevas y sus relaciones con enfermedades comprenden *B. hinzii* (bacteriemia y enfermedad respiratoria). *B. holmseii* (bacteriemia en pacientes inmunodeficientes) y *B. trematum* (heridas y otitis media). *B. pertussis, B. parapertussis* y *B. bronchiseptica* están íntimamente relacionadas y tienen una homología de DNA de 72 a 94% y diferencias muy limitadas en el análisis enzimático multilocus; las tres especies podrían considerarse tres subespecies dentro de una especie. *B. avium* es una especie distintiva.

BORDETELLA PERTUSSIS

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Los microorganismos son cocobacilos gramnegativos diminutos que se parecen a *H. influenzae.* En la tinción con azul de toluidina, se pueden demostrar gránulos metacromáticos bipolares. Contienen una cápsula.

B. Cultivo

El aislamiento primario de *B. pertussis* exige medios enriquecidos. El medio de Bordet-Gengou (agar papa-sangre-glicerol) que contiene penicilina G, 0.5 μg/ml se puede utilizar; sin embargo, es preferible un medio que contenga carbón activado similar al que se utiliza para *Legionella pneumophila.* Los discos se incuban a una temperatura de 35 a 37°C durante tres a siete días en medio húmedo (p. ej., una bolsa de plástico sellada). Los bacilos gramnegativos de tinción débil pequeños se identifican mediante la tinción inmunofluorescente. *B. pertussis* no es móvil.

C. Características de crecimiento

El microorganismo es un aerobio estricto y forma ácido pero no gas a partir de glucosa y lactosa. No necesita factores X y V en el subcultivo. La hemólisis de medio que contiene sangre se relaciona con *B. pertussis* virulento.

D. Variación

Cuando se aísla en pacientes y se cultiva en medios enriquecidos, *B. pertussis* se encuentra en la fase hemolítica y virulenta productora de toxina pertussis. Hay dos mecanismos por los cuales *B. pertussis* cambia a formas no hemolíticas, no virulentas no productoras de toxina. La modulación fenotípica reversible ocurre cuando se multiplica *B. pertussis* en ciertas condiciones ambientales (p. ej., 28°C por contraposición a 37°C, la presencia de $MgSO_4$, etc.). La variación de fase reversible se presenta tras una mutación de baja frecuencia en el locus genético que controla la expresión de los factores de virulencia (véase adelante). Es posible que estos mecanismos desempeñen una función en el proceso infeccioso, pero no se ha demostrado clínicamente cuál es.

Estructura antigénica, patogenia y anatomía patológica

B. pertussis produce diversos factores que intervienen en la patogenia de la enfermedad. Un locus en el cromosoma de *B. pertussis* hace las veces de un regulador central de los genes de virulencia. Este locus tiene dos genes de virulencia de *Bordetella,* ***bvgA*** y ***bvgS***. Los productos de los loci A y S son similares a los de los sistemas reguladores de dos componentes conocidos. *bvgS* responde a las señales ambientales en tanto que *bvgA* es un activador de la transcripción de los genes de virulencia. La **hemaglutinina filamentosa** media la adherencia a las células epiteliales ciliadas. La **toxina pertussis** favorece la linfocitosis, la sensibilización a la histamina y la mayor secreción de insulina y tiene una actividad de ribosilación de ADP, con una estructura A/B y un mecanismo de acción similar al de la toxina del cólera. La hemaglutinina filamentosa y la toxina pertussis son proteínas secretadas y se encuentran fuera de las células de *B. pertussis.* La **toxina adenilatociclasa**, la **toxina dermonecrótica** y la **hemolisina** también son reguladas por el sistema bvg. La **citotoxina traqueal** inhibe la síntesis de DNA en las células ciliadas y no es regulada por bvg. Las pilosidades probablemente tienen una participación en la adherencia de las bacterias a las células epiteliales ciliadas de las vías respi-

ratorias altas. El lipopolisacárido presente en la pared celular también es importante como causa de lesión de las células epiteliales del sistema respiratorio alto.

B. pertussis sobrevive sólo durante breves periodos fuera del hospedador humano. No hay vectores. La transmisión en gran parte es por la vía respiratoria de casos en etapas iniciales y posiblemente a través de portadores. El microorganismo se adhiere a la superficie epitelial de la tráquea y los bronquios y se multiplica rápidamente e interfiere en la acción ciliar. No hay invasión de la sangre. La bacteria libera las toxinas y las sustancias que irritan las células de la superficie produciendo tos y linfocitosis intensa. Más tarde, puede haber necrosis de partes del epitelio e infiltración por polimorfonucleares, con inflamación peribronquial y neumonía intersticial. Los invasores secundarios como estafilococos o *H. influenzae* pueden originar una neumonía bacteriana. La obstrucción de los bronquíolos más pequeños por tapones de moco produce atelectasia y disminución de la oxigenación de la sangre. Esto probablemente contribuye a la frecuencia de convulsiones en los lactantes con tos ferina.

Manifestaciones clínicas

Después de un periodo de incubación de casi dos semanas, sobreviene la "etapa catarral", con accesos de tos leve y estornudos. Durante esta etapa, un gran número de microorganismos son pulverizados en las gotitas y el paciente es muy contagioso pero no está muy enfermo. Durante la etapa "paroxística", la tos desarrolla su carácter explosivo y el característico "coqueluche" con la inhalación. Esto lleva al agotamiento rápido y puede acompañarse de vómito, cianosis y convulsiones. El "coqueluche" y las complicaciones principales se presentan sobre todo en los lactantes; la tos paroxística predomina en los niños mayores y en los adultos. La leucocitosis es elevada (16 000 a 30 000/μl) con una linfocitosis absoluta. La convalecencia es lenta. *B. pertussis* es una causa frecuente de tos prolongada (cuatro a seis semanas) en los adultos. Pocas veces la tos ferina se acompaña de complicaciones graves y potencialmente mortales como la encefalitis. Diversos tipos de adenovirus y *Chlamydia pneumoniae* pueden producir un cuadro clínico similar o causado por *B. pertussis.*

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

La muestra preferida es el lavado nasal con solución salina. En ocasiones se utilizan los frotis de secreciones nasofaríngeas o las gotitas de tos expulsadas en una "placa para la tos" mantenida enfrente de la boca del paciente durante un paroxismo pero no es tan satisfactorio como el lavado nasal con solución salina.

B. Prueba de anticuerpo fluorescente directo

El reactivo de anticuerpo fluorescente (FA, *fluorescent antibody*) se puede utilizar para examinar las muestras de frotis nasofaríngeas. Sin embargo, pueden ocurrir resultados falsos positivos y falsos negativos. La sensibilidad es de casi 50%. La prueba de FA es muy útil para identificar *B. pertussis* después del cultivo en medios sólidos.

C. Cultivo

El líquido del lavado nasal con solución salina se cultiva en agar de medio sólido (véase antes). Los antibióticos en los medios de cultivo tienden a inhibir otra microflora respiratoria pero permiten la multiplicación de *B. pertussis.* Se identifican los microorganismos mediante la tinción inmunofluorescente o por la aglutinación en portaobjetos con antisuero específico.

D. Reacción en cadena de la polimerasa

La reacción en cadena de la polimerasa es el método más sensible para diagnosticar tos ferina. Deben incluirse sensibilizadores tanto para *B. pertussis* como para *B. parapertussis.* Cuando se dispone de esta prueba debe remplazar a las pruebas de anticuerpos fluorescentes directos.

E. Diagnóstico serológico

Las pruebas serológicas en los pacientes son de escasa ayuda diagnóstica porque una elevación de los anticuerpos aglutinantes o precipitantes no se presenta hasta la tercera semana de la enfermedad. Un solo suero con altos títulos de anticuerpos es útil para el diagnóstico de la causa de una tos crónica, de una a varias semanas de duración.

Inmunidad

El restablecimiento tras la tos ferina o la inmunización contra la misma se acompaña de inmunidad. Pueden presentarse segundas infecciones pero son leves; las reinfecciones que se presentan años después en los adultos pueden ser graves. Es probable que la primera defensa contra la infección por *B. pertussis* sea el anticuerpo que evita la adherencia de las bacterias a los cilios del epitelio respiratorio.

Tratamiento

B. pertussis es susceptible a varios fármacos antimicrobianos *in vitro*. La administración de eritromicina durante la etapa catarral de la enfermedad favorece la eliminación de los microorganismos y puede tener utilidad en la profilaxis. El tratamiento tras el inicio de la fase paroxística pocas veces modifica la evolución clínica. La inhalación de oxígeno y la sedación evitan la lesión anóxica del cerebro.

Prevención

Todo lactante debiera recibir tres inmunizaciones contra la tos ferina durante el primer año de vida después de una serie de refuerzos hasta un total de cinco dosis. Se dispone de múltiples vacunas acelulares contra la tos ferina autorizadas en Estados Unidos y en otros países. Se recomienda el empleo de estas vacunas. Las vacunas acelulares tienen por lo menos dos de los siguientes antígenos: toxina de la tos ferina inactivada, hemaglutinina filamentosa, proteínas fimbriales y pertactina.

Puesto que diferentes vacunas tienen diferentes antígenos, se debe utilizar el mismo producto durante toda una serie de inmunización. La vacuna contra la tos ferina se administra, por lo común, en combinación con los toxoides de difteria y tétanos (DTaP). Se recomiendan cinco dosis de vacuna contra la tos

ferina antes de ingresar a la escuela. El esquema habitual de administración consiste en aplicar las dosis a los dos, cuatro, seis y 15 a 18 meses de edad y una dosis de refuerzo a los cuatro a seis años de edad. En 2005, el *Advisory Committee on Immunization* recomendó que todos los adolescentes y los adultos recibieran una dosis de refuerzo individual de tétanos-difteria-tos ferina acelular (TdaP) para remplazar la dosis de refuerzo de los toxoides del tétanos y la difteria solos (Td). En Estados Unidos se dispone de dos vacunas contra tos ferina acelular para utilizarse en adolescentes y adultos.

La administración profiláctica de eritromicina durante cinco días también beneficia a los lactantes no inmunizados o a los adultos con exposición intensa.

Epidemiología y control

La tos ferina es endémica en casi todas las regiones densamente pobladas del mundo y también se presenta en forma intermitente en epidemias. La fuente de la infección suele ser un paciente en las primeras etapas catarrales de la enfermedad. Es considerable la contagiosidad y fluctúa de 30 a 90%. Casi todos los casos se presentan en niños menores de cinco años; la mayor parte de las muertes ocurre durante el primer año de vida.

El control de la tos ferina se basa principalmente en la inmunización activa adecuada de todos los lactantes.

BORDETELLA PARAPERTUSSIS

Este microorganismo puede producir enfermedad similar a la tos ferina, pero en general es menos grave. La infección suele ser asintomática. *Bordetella parapertussis* se multiplica con mayor rapidez que *B. pertussis* típica y produce colonias más grandes. También se multiplica en agar sangre. *B. parapertussis* tiene una copia silente del gen de la toxina de pertussis.

BORDETELLA BRONCHISEPTICA

Bordetella bronchiseptica es un bacilo gramnegativo pequeño que reside en los sistemas respiratorios de caninos, en los que puede producir "tos canina" y neumonitis. Produce catarro nasal en los conejos y rinitis atrófica en los cerdos. Pocas veces es causa de infecciones respiratorias crónicas en el ser humano, principalmente en personas con enfermedades subyacentes. Se multiplica en medio de agar sangre. *B. bronchiseptica* tiene una copia silente del gen de la toxina de pertussis.

LAS BRUCELAS

Las brucelas son parásitos obligados de animales y seres humanos y es característico que se localicen en el interior de la célula. Tienen un metabolismo relativamente inactivo. *Brucella melitensis* suele infectar a las cabras; *Brucella suis*, a los cerdos; *Brucella abortus,* al ganado vacuno, y *Brucella canis*, a los perros. Se encuentran otras especies sólo en los animales. Aunque se denominan como especies, los estudios de relación de DNA han demostrado que sólo hay una especie en el género, *Brucella melitensis,* con múltiples biovariedades. humano, brucelosis (fiebre ondulante, fiebre de malta), se caracteriza por una fase bacteriémica aguda que se acompaña de una etapa crónica que puede prolongarse durante muchos años y puede afectar a diversos tejidos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

El aspecto en los cultivos jóvenes varía desde los cocos hasta los bacilos de 1.2 μm de longitud, predominando las formas cocobacilares cortas. Son gramnegativos pero a menudo se tiñen con irregularidad y son aerobios, no móviles y no formadores de esporas.

B. Cultivo

Las colonias pequeñas, convexas y lisas aparecen en medios enriquecidos en un lapso de dos a cinco días.

C. Características de crecimiento

Las brucelas están adaptadas a un hábitat intracelular y sus necesidades nutricionales son complejas. Algunas cepas se han cultivado en medios definidos que contienen aminoácidos, vitaminas, sales y glucosa. Las muestras recientes de fuentes animales o humanas suelen inocularse en agar de tripticasa-soya y medios para hemocultivo. *B. abortus* necesita CO_2 al 5 a 10% para multiplicarse, en tanto que otras especies se multiplican en el aire.

Las brucelas utilizan hidratos de carbono pero no producen ácido ni gas en cantidades suficientes para la clasificación. Cuatro especies que infectan al ser humano son catalasa y oxidasa positivas. El sulfuro de hidrógeno es producido por muchas cepas y los nitratos se reducen a nitritos.

Las brucelas son moderadamente sensibles al calor y a la acidez. Son destruidas en la leche mediante pasteurización.

D. Variación

El microorganismo virulento típico forma una colonia lisa y transparente; en el cultivo tiende a cambiar a la forma rugosa, que no es virulenta.

El suero de animales susceptibles contiene una globulina y una lipoproteína que suprime la proliferación de tipos no lisos a virulentos y favorece la multiplicación de los tipos virulentos. Las especies de animales resistentes carecen de estos factores, de manera que puede ocurrir mutación rápida a la no virulencia. La D-alanina tiene un efecto similar *in vitro*.

Estructura antigénica

La diferenciación entre las especies o biovariedades del género *Brucella* es posible por su sensibilidad característica a los colorantes y su producción de H_2S. Pocos laboratorios han mantenido los procedimientos para estas pruebas y las brucelas pocas veces se clasifican en las especies tradicionales. Puesto que las brucelas son riesgosas en el laboratorio, se deben efectuar pruebas para clasificarlas sólo en los laboratorios de salud pública de referencia utilizando precauciones de bioseguridad apropiadas.

Patogenia y anatomía patológica

Aunque cada especie de *Brucella* tiene un hospedador preferido, todos pueden infectar a una amplia gama de animales, incluidos los seres humanos.

Las vías frecuentes de infección en el ser humano son el tubo digestivo (ingestión de leche infectada), las mucosas (gotitas) y la piel (contacto con tejidos infectados de animales). El queso elaborado con leche de cabra no pasteurizada es un vehículo muy común. Los microorganismos avanzan desde el lugar de entrada, a través de los conductos linfáticos y los ganglios linfáticos regionales, hasta el conducto torácico y el torrente sanguíneo, distribuyéndose a los órganos parenquimatosos. Los nódulos granulomatosos que pueden desarrollarse en abscesos se forman en el tejido linfático, hígado, bazo, médula ósea y otras porciones de sistema reticuloendotelial. En tales lesiones, las brucelas tienen una localización intracelular principalmente. También suele presentarse osteomielitis, meningitis o colecistitis. La principal reacción histológica en la brucelosis consiste en la proliferación de leucocitos mononucleares, exudación de fibrina, necrosis con coagulación y fibrosis. Los granulomas constan de células epitelioides y gigantes con necrosis central y fibrosis periférica.

Las brucelas que infectan al ser humano tienen diferencias notables en la patogenicidad. *B. abortus* por lo general produce una infección leve sin complicaciones purulentas; se encuentran granulomas no caseificantes en el sistema reticuloendotelial. *B. canis* también produce enfermedad leve. La infección por *B. suis* tiende a ser crónica con las lesiones purulentas; puede haber granulomas caseificantes. La infección por *B. melitensis* es más aguda y grave.

Las personas con brucelosis activa reaccionan más notablemente (fiebre, mialgias) que las personas sanas a la endotoxina de *Brucella* inyectada. Por consiguiente, la sensibilidad a la endotoxina puede tener una participación en la patogenia.

Las placentas y las membranas fetales de ganado vacuno, cerdos, ovejas y cabras contienen eritritol, un factor de crecimiento para las brucelas. La proliferación de microorganismos en animales preñados desencadena placentitis y aborto en estas especies. No hay eritritol en las placentas humanas y el aborto no es parte de la infección por *Brucella* en el ser humano.

Manifestaciones clínicas

El periodo de incubación es de una a seis semanas. El inicio es insidioso y se caracteriza por ataque al estado general, fiebre, debilidad, mialgias generalizadas y diaforesis. La fiebre por lo general aumenta por la tarde; su descenso durante la noche se acompaña de sudación abundante. Puede haber síntomas digestivos y nerviosos. Los ganglios linfáticos aumentan de tamaño y el bazo se vuelve palpable. La hepatitis puede acompañarse de ictericia. El dolor intenso y las alteraciones del movimiento, sobre todo en los cuerpos vertebrales, indican osteomielitis. Estos síntomas de infección generalizada por *Brucella* generalmente ceden en semanas o meses, aunque pueden continuar las lesiones circunscritas y los síntomas.

Después de la infección inicial, puede presentarse una etapa crónica, que se caracteriza por debilidad, mialgias y dolores, febrícula, nerviosismo y otras manifestaciones inespecíficas que son compatibles con síntomas psiconeuróticos. Las brucelas no se pueden aislar del paciente en esta etapa, pero el título de aglutinina puede ser alto. Es difícil establecer el diagnóstico de "brucelosis crónica" con certeza a menos que haya lesiones locales presentes.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Se debe obtener sangre para cultivo, material de biopsia para cultivo (ganglios linfáticos, hueso, etc.) y suero para pruebas serológicas.

B. Cultivo

El agar para *Brucella* fue concebido de manera específica para el cultivo de bacterias del género *Brucella.* El medio es muy enriquecido y en su forma reducida se utiliza principalmente en los cultivos para las bacterias anaerobias. En la forma oxigenada el medio multiplica especies de *Brucella* muy bien. Sin embargo, la infección por bacterias del género *Brucella* a menudo no se sospecha cuando se disponen los cultivos de las muestras de un paciente y pocas veces se incuba en condiciones aeróbicas agar para *Brucella.* Las bacterias del género *Brucella* se multiplican en medios de uso frecuente, como puede ser por medio de tripticasa y soya con o sin sangre de carnero al 5%, medio de infusión en cerebro y corazón y agar chocolate. Las bacterias del género *Brucella* se multiplican con facilidad en medios para hemocultivo (véase adelante). El medio líquido que se utiliza para el cultivo de *Mycobacterium tuberculosis* también respalda la multiplicación de por lo menos algunas cepas. Todos los cultivos se deben incubar en CO_2 al 8 a 10% a una temperatura de 35 a 37°C y se deben observar durante tres semanas antes de descartarse como negativos; los medios de cultivo líquidos deben volver a cultivarse aunque no se observe crecimiento durante este periodo.

La médula ósea y la sangre son las muestras a partir de las cuales se aíslan con más frecuencia brucelas. El método de elección para la médula ósea es utilizar los tubos Isolator pediátricos, que no necesitan ultracentrifugación, con inoculación de todo el contenido del tubo en medios sólidos. Los medios utilizados en los sistemas de hemocultivo semiautomáticos y automáticos producen la multiplicación de las brucelas con facilidad, por lo general al cabo de una semana; sin embargo, se recomienda mantener los cultivos durante tres semanas. Los cultivos negativos para *Brucella* no excluyen la enfermedad porque las brucelas pueden cultivarse en los pacientes sólo durante la fase aguda de la enfermedad o durante la recidiva de la misma.

Después de algunos días de incubación en medios de agar, las brucelas forman colonias en la estría primaria que tiene un diámetro <1 mm. No son hemolíticas. La observación de pequeñísimos cocobacilos gramnegativos que son catalasa y oxidasa positivos indica la presencia de bacterias del género *Brucella.* Todo trabajo adicional en estos cultivos debe realizarse en una cabina con medidas de bioseguridad. Se debe inocular un cultivo inclinado de urea de Christensen y observarse con frecuencia. Una prueba de ureasa positiva es característica de bacterias del género *Brucella. B. suis* y algunas cepas de *B. melitensis* pueden producir una prueba positiva menos de 5 min después de inocular el cultivo inclinado; otras cepas tardan de horas a 24 h. Las bacterias que cumplen estos criterios deben enviarse rápidamente a un laboratorio de salud pública de referencia para la identificación presuntiva. Las bacterias del género *Brucella* son microorganismos selectos de la

categoría B. Se han ideado métodos moleculares para diferenciar rápidamente las diversas biovariedades.

C. Diagnóstico serológico

Durante la primera semana de la enfermedad aguda aumentan las concentraciones de anticuerpos IgM, alcanzan un máximo a los tres meses y pueden persistir durante la enfermedad crónica. Aun con la antibioticoterapia apropiada, las concentraciones elevadas de IgM pueden persistir hasta por dos años en un pequeño porcentaje de los pacientes. Las concentraciones de anticuerpo IgG se incrementan casi tres semanas después del inicio de la enfermedad aguda, alcanzan un máximo a las seis a ocho semanas y se mantienen elevadas durante la enfermedad crónica. Las concentraciones de IgA son paralelas a las concentraciones de IgG. Las pruebas serológicas habituales pueden no detectar infección por *B. canis.*

1. Prueba de aglutinación. Para que sean fiables las pruebas de aglutinación en suero deben realizarse con antígenos de *Brucella* estandarizados obtenidos por destrucción térmica, expuestos a fenol, simples. Los títulos de aglutinina IgG superiores a 1:80 indican infección activa. Las personas a las que se inyecta vacuna contra el cólera pueden presentar títulos de aglutinación contra las brucelas. Si la prueba de aglutinación en suero es negativa en pacientes con signos clínicos de infección por *Brucella,* se deben realizar pruebas para detectar la presencia de anticuerpos "bloqueantes". Éstos se pueden detectar añadiendo globulina antihumana a la mezcla de antígeno y suero. Las aglutininas de la brucelosis producen reacción cruzada con las aglutininas de la tularemia y se deben realizar las pruebas para las dos enfermedades en sueros positivos. Por lo general el título para una enfermedad será mucho más elevado que para la otra.

2. Bloqueo de anticuerpos. Éstos son anticuerpos IgA que interfieren en la aglutinación por IgG e IgM y hacen que una prueba serológica sea positiva en diluciones bajas en suero (prozona) aunque son positivas en las diluciones más altas. Tales anticuerpos aparecen durante la etapa subaguda de la infección, tienden a persistir por muchos años independientemente de la actividad de la infección y se detectan por el método de antiglobulina de Coombs.

3. ELISA. Se pueden detectar anticuerpos IgG, IgA e IgM utilizando una prueba de ELISA, los cuales hacen uso de las proteínas citoplásmicas como antígenos. Tales análisis tienden a ser más sensibles y específicos que la prueba de aglutinación.

Inmunidad

Una respuesta de anticuerpos ocurre con la infección y es probable que se produzca cierta resistencia a los ataques subsiguientes. Las fracciones inmunógenas de paredes celulares de *Brucella* tienen un alto contenido de fosfolípido; la lisina predomina entre los ocho aminoácidos; y no hay heptosa (lo que distingue por tanto las fracciones de la endotoxina).

Tratamiento

Las brucelas pueden ser susceptibles a las tetraciclinas o a la ampicilina. El alivio sintomático puede presentarse a los pocos días después de iniciar el tratamiento con estos fármacos. Sin embargo, por su ubicación intracelular, los microorganismos no se erradican con facilidad del todo del hospedador. Para mejores resultados, se debe prolongar el tratamiento. Se recomienda el tratamiento combinado mediante una tetraciclina (como la doxiciclina) y estreptomicina durante dos a tres semanas o rifampicina durante seis semanas.

Epidemiología, prevención y control

Las brucelas son microorganismos patógenos en los animales y son transmitidos al ser humano por el contacto accidental con heces, orina, leche y tejidos de animales infectados. Las fuentes frecuentes de infección para el ser humano son leche no pasteurizada, productos lácteos y queso y el contacto laboral (p. ej., granjeros, veterinarios y personas que trabajan en los rastros) con animales infectados.

Los quesos elaborados con leche de cabra no pasteurizada son un vehículo muy frecuente para la transmisión de la brucelosis. En ocasiones es importante la vía aérea. Debido al contacto laboral, la infección por *Brucella* es mucho más frecuente en los varones. La mayor parte de las infecciones se mantiene asintomática (latente).

Las tasas de infección varían bastante con los diferentes animales, y en los diversos países. Fuera de Estados Unidos, la infección tiene una mayor prevalencia. La erradicación de la brucelosis en el ganado vacuno puede intentarse mediante prueba y sacrificio, inmunización activa de novillas con la cepa 19 viva no virulenta, o combinando pruebas, segregación e inmunización. Se examina el ganado vacuno por medio de pruebas de aglutinación.

La inmunización activa del ser humano contra la infección por *Brucella* se encuentra en fase experimental. El control se basa en limitar la diseminación y en la posible erradicación de la infección de animales, la pasteurización de la leche y los productos lácteos y la reducción de los riesgos laborales cuando es posible.

FRANCISELLA TULARENSIS Y TULAREMIA

Las bacterias del género *Francisella* tienen una amplia distribución en reservorios animales y medios acuáticos. La taxonomía de este género ha experimentado múltiples cambios a través de los años. Existen cuatro subespecies reconocidas de *Francisella tularensis: tularensis, holarctica, mediasiatica* y *novicida*. La subespecie *tularensis* (tipo A) es la más virulenta de este grupo y la más patógena en el ser humano. Se relaciona con conejos silvestres, garrapatas y moscas tábano. Las cepas de la subespecie *holarctica* producen infección más leve y se relacionan con liebres, garrapatas, mosquitos y moscas tábano. *F. tularensis* es transmitida al ser humano por artrópodos y moscas que pican, por el contacto directo con el tejido animal infectado, la inhalación de aerosoles o la ingestión de alimento o agua contaminados. La presentación clínica depende de la vía de infección: se describen seis síndromes importantes (véase Patogenia y manifestaciones clínicas, y el análisis actualizado sobre la tularemia que se proporciona en la cita de Nigrovic et al). También existe una especie adicional, *Francisella philomiragia.* Las infecciones causadas por *F. philomiragia* son poco comunes, y por lo general se presentan en situaciones de ahogamiento inminente. Este microorganismo no se describe en el texto.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

F. tularensis es un cocobacilo gramnegativo pequeño. Pocas veces se detecta en frotis de tejido (fig. 18-2).

B. Muestras

Se obtiene sangre de las pruebas serológicas. Se puede aislar el microorganismo en el cultivo de aspirados de ganglios linfáticos, médula ósea, sangre periférica, tejidos profundos y biopsias de úlceras.

C. Cultivo

Para el cultivo son necesarios los medios enriquecidos que contengan cisteína. Antes se prefería el agar sangre con glucosa-cisteína, pero *F. tularensis* se multiplica en medios comercializados que contienen hemina como son el agar chocolate, el agar Thayer-Martin modificado y el extracto de levadura de carbón amortiguado (BCYE, *buffered charcoal yeast extract*) de agar que se utiliza para cultivar especies de *Legionella.* Los medios se deben incubar en CO_2 a una temperatura de 35 a 37°C durante dos a cinco días. **Precaución:** a fin de evitar las infecciones adquiridas en el laboratorio, es necesario practicar los procedimientos de nivel de bioseguridad 3 (BSL III, *biosafety level three*) al trabajar con cultivos que se sospeche contengan bacterias vivas de *F. tularensis.*

D. Diagnóstico serológico

Todas las cepas son serológicamente idénticas y presentan un antígeno de polisacárido y uno o más antígenos de proteínas que experimentan reacción cruzada con brucelas. Sin embargo, existen dos biogrupos principales de cepas, llamadas Jellison de tipo A y de tipo B. La de tipo A se presenta sólo en Norteamérica, es mortal para los conejos, produce enfermedad grave en el ser humano, fermenta glicerol y contiene citrulina ureidasa. La de tipo B carece de estas características bioquímicas, no es mortal para los conejos, produce enfermedad más leve en el ser humano y suele aislarse de roedores o de agua en Europa, Asia y Norteamérica. Otros biogrupos tienen una escasa patogenicidad.

La respuesta de anticuerpo habitual consiste en aglutininas que se presentan siete a 10 días después del inicio de la enfermedad.

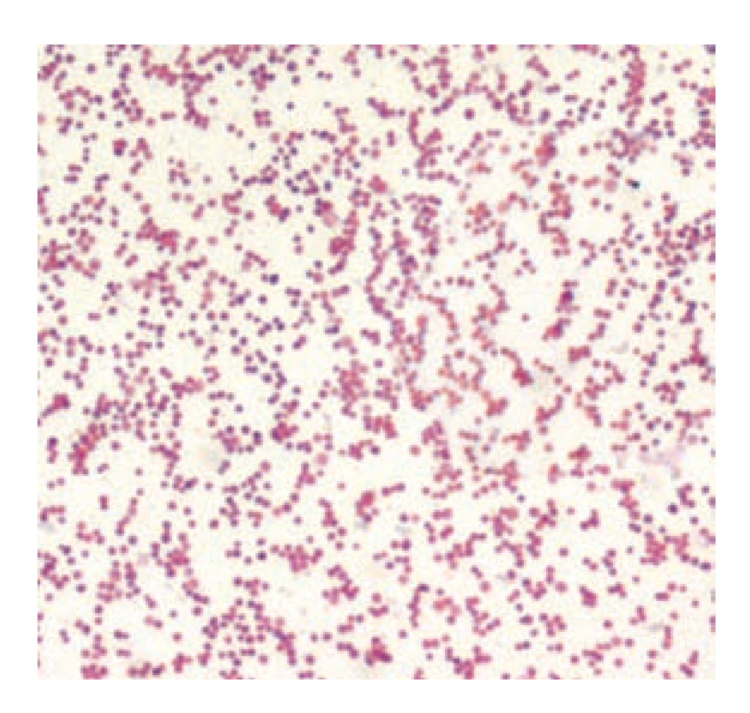


FIGURA 18-2 Tinción de Gram de *Francisella tularensis*. Estas bacterias son cocobacilos gramnegativos pequeñísimos de unos 0.2 × 0.7 μm. Aumento original × 1 000. (Cortesía de CDC Public Health Image Library.)

Patogenia y manifestaciones clínicas

F. tularensis es muy infeccioso: la penetración de la piel o las mucosas o la inhalación de 50 microorganismos puede producir infección. Es más frecuente que los microorganismos entren a través de abrasiones en la piel. En dos a seis días, sobreviene una pápula inflamatoria ulcerosa. Los ganglios linfáticos regionales aumentan de tamaño y pueden volverse necróticos, a veces presentan secreción purulenta por semanas (tularemia ulceroganglionar). La inhalación de un aerosol infeccioso produce inflamación peribronquial y neumonitis circunscrita (tularemia neumónica). La tularemia oculoganglionar puede presentarse cuando un dedo infectado o una gotita tocan la conjuntiva. Las lesiones granulomatosas amarillentas en los párpados pueden acompañarse de adenopatía periauricular. Las otras formas de la enfermedad son la tularemia ganglionar (linfadenopatía pero sin úlceras), la tularemia bucofaríngea y la tularemia tifóidica (septicemia). En todos los casos se presenta fiebre, malestar, cefalea y dolor de la región afectada y de los ganglios linfáticos regionales.

Por el carácter tan infeccioso de *F. tularensis,* este microorganismo es un agente potencial de bioterrorismo y en la actualidad está clasificado en la lista de agentes selectos como un agente de categoría A. Los laboratorios que aíslan *F. tularensis* sospechosa deben notificar a las autoridades de salud pública y deben remitir la cepa a un laboratorio de referencia que pueda llevar a cabo la identificación definitiva.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Aunque *F. tularensis* puede aislarse de las muestras clínicas antes mencionadas, el diagnóstico se basa en los estudios serológicos. Las muestras de suero pares obtenidas a intervalos de dos semanas permiten demostrar un incremento del título de aglutinación. Un solo título sérico de 1:160 es muy sugestivo si los antecedentes y los signos físicos son compatibles con el diagnóstico. Como los anticuerpos reactivos en la prueba de aglutinación para la tularemia también reaccionan en la prueba para la brucelosis, se deben realizar las dos pruebas para los sueros positivos; el título para la enfermedad que afecta al paciente suele ser cuatro veces mayor que el de otras enfermedades.

Tratamiento

El tratamiento con estreptomicina o gentamicina por un periodo de 10 días casi siempre produce mejoría rápida. La tetraciclina también es eficaz, pero son más frecuentes las recidivas. *F. tularensis* es resistente a todos los antibióticos lactámicos β.

Prevención y control

El ser humano adquiere la tularemia del manejo de conejos o ratas almizcleras infectados o de mordeduras de una garrapata o una mosca del ciervo infectada. Con menor frecuencia, la fuente es el agua o el alimento contaminados o el contacto con un perro o un gato que ha atrapado a un animal silvestre infectado. El evitar el contacto es clave para la prevención. La infección en los animales silvestres no se puede controlar. Las personas con riesgo muy elevado, sobre todo el personal de investigación en laboratorios, se puede inmunizar mediante la administración de una cepa de *F. tularensis* viva atenuada, disponible sólo a través de un acuerdo de investigación cooperador con *US Army Medical Research Institute of Infectious Diseases* , *Fort Detrick, Frederick, MD 21701*. La vacuna se administra mediante funciones múltiples a través de la piel y sólo proporciona inmunidad parcial. Se ha administrado una vacuna de microorganismos vivos similar en Rusia a gran escala.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una mujer de 68 años de edad fue atendida en la clínica porque presentaba febrícula y había experimentado dolor y edema crecientes en la rodilla izquierda durante las últimas tres semanas. Cuatro años antes, se le había implantado una prótesis articular en esa rodilla. Al explorar la rodilla estaba edematosa y se podía detectar líquido. Se obtuvo un aspirado de líquido. Había 15 000 leucocitos polimorfonucleares por mililitro en el líquido. No se observaban microorganismos en la tinción de Gram. Se llevó a cabo un cultivo sistemático. En el cuarto día de la incubación, se observaron colonias incoloras <1 mm de diámetro en los discos de agar sangre y chocolate. El microorganismo era un cocobacilo gramnegativo diminuto que producía catalasa y oxidasa. Se inoculó un hemocultivo inclinado para urea y fue positivo para la actividad de ureasa tras la incubación durante la noche. ¿Con cuál de los siguientes microorganismos probablemente se infectó la paciente?
   (A) *Haemophilus influenzae*
   (B) *Haemophilus ducreyi*
   (C) *Francisella tularensis*
   (D) Bacterias del género *Brucella*
   (E) *Staphylococcus aureus*
2. Después que el cultivo (pregunta 1) se volvió positivo, se obtuvieron antecedentes adicionales. Casi cuatro semanas antes del inicio de su dolor en la rodilla, la paciente había visitado a familiares en Israel y había viajado a otros países de la región mediterránea. Le tomó gusto en particular a un producto alimenticio que era el probable vehículo de su infección. El producto más probable era
   (A) Plátanos
   (B) Queso de leche de cabra no pasteurizada
   (C) Hamburguesa mal cocida
   (D) Jugo de naranja fresco
   (E) Té verde
3. Un guardabosques de 55 años de edad en Vermont descubrió una rata almizclera muerta a la orilla de un arroyo. Levantó al animal, pensando que podría haber sido capturado o matado ilegalmente; no fue así y el guardabosques la enterró. Cuatro días después presentó una úlcera dolorosa de 1.5 cm en el dedo índice de su mano derecha, una úlcera de 1 cm en el lado derecho de la frente y dolor en la axila derecha. La exploración física también reveló linfadenopatía axilar derecha. Este paciente muy probablemente contrajo una infección por
   (A) Bacterias del género *Brucella*
   (B) *Rickettsia rickettsii*
   (C) *Salmonella typhi*
   (D) *Haemophilus ducreyi*
   (E) *Francisella tularensis*
4. Un niño de 18 meses de edad estaba jugando con otro niño que presentó meningitis por *Haemophilus influenzae.* Sus padres consultan a su pediatra quien dice que seguramente el niño estará bien porque se ha inmunizado completamente con la vacuna conjugada de fosfato de polirribosa (PRP) y proteína. ¿Por qué motivo es necesario inmunizar a los lactantes de dos meses a dos años de edad con las vacunas conjugadas de polisacárido y proteína?
   (A) La proteína conjugada es toxoide diftérico y el objetivo es que el lactante presente inmunidad simultánea a la difteria
   (B) Los lactantes de dos meses a dos años de edad no tienen respuesta inmunitaria a las vacunas de polisacárido que no están conjugadas con una proteína
   (C) La vacuna conjugada está concebida para niños mayores y adultos lo mismo que para lactantes
   (D) Los anticuerpos maternos (transplacentarios) contra *Haemophilus influenzae* desaparecen de la circulación del lactante hacia los dos meses de edad
   (E) Ninguno de los anteriores
5. Un niño de 11 años de edad, originario de Perú fue remitido al Instituto de Tumores Cerebrales. Tres meses antes había presentado cefalea y luego debilidad del lado derecho de evolución lenta. Una gammagrafía cerebral mostró una lesión expansiva en el hemisferio izquierdo. Se pensó que tenía un tumor cerebral. No se llevó a cabo una punción lumbar por la preocupación sobre el incremento de la presión intracraneal y herniación del cerebro a través de la tienda del cerebelo. En la intervención quirúrgica se descubrió una lesión expansiva en el hemisferio izquierdo. Se realizaron cortes congelados del tejido mientras el paciente estaba en la mesa de operaciones. El examen microscópico de los cortes demostró una reacción inflamatoria granulomatosa. No se detectó ningún tumor. Se remitió el tejido para cultivo de *Mycobacterium tuberculosis.* Se utilizó el medio en caldo de Middlebrook 7H9. Seis días después de establecerse el cultivo, el aparato automático detectó que el cultivo era positivo. La tinción acidorresistente y la tinción de Gram fueron negativas. Se llevaron a cabo subcultivos. Dos días más tarde, se observaron colonias muy pequeñas en la placa de agar sangre de cordero. El microorganismo era un cocobacilo gramnegativo diminuto que producía catalasa y oxidasa. Demostró actividad de ureasa después de 2 h de incubación en medio que contenía urea. Este niño tenía una infección por
   (A) Bacterias del género *Brucella*
   (B) *Mycobacterium tuberculosis*
   (C) *Francisella tularensis*
   (D) *Haemophilus influenzae*
   (E) *Moraxella catarrhalis*
6. Un niño de 3 años de edad presenta meningitis por *Haemophilus influenzae.* Se inicia el tratamiento con cefotaxima. ¿Por qué se utiliza esta cefalosporina de tercera generación en vez de ampicilina?
   (A) Alrededor de 80% de los microorganismos de la especie *Haemophilus influenzae* ha modificado las proteínas fijadoras de penicilina que confieren resistencia a la ampicilina.
   (B) El fármaco de elección, trimetoprim-sulfametoxazol no se puede usar en vista de que el niño es alérgico a las sulfonamidas
   (C) Es más fácil administrar cefotaxima intravenosa que ampicilina intravenosa
   (D) Existe la preocupación de que el niño rápidamente presente alergia a la penicilina (ampicilina)
   (E) Casi 20% de los microorganismos de la especie *Haemophilus influenzae* tienen un plásmido que codifica la síntesis de lactamasa β.

7. Un varón de 55 años de edad con caries dental grave acude con fiebre, malestar y dorsalgia de un mes de evolución y ahora presenta disnea moderadamente grave. La exploración revela un hombre febril que tiene aspecto pálido y disneico. Otros signos físicos son petequias conjuntivales, un soplo sistólico de grado III/VI y esplenomegalia. Los hemocultivos revelan un bacilo gramnegativo polimorfo que no es hemolítico y que cuando se realizaron pruebas fueron negativas para factores X y V. El microorganismo patógeno causal más probable es
   (A) *Haemophilus influenzae*
   (B) *Haemophilus ducreyi*
   (C) *Aggregatibacter aphrophilus*
   (D) *Actinobacillus hominis*
   (E) *Haemophilus parainfluezae*
8. Todas las aseveraciones siguientes con respecto a las vacunas de tos ferina acelular son correctas, *excepto:*
   (A) Todas las formulaciones de la vacuna contienen por lo menos dos antígenos
   (B) La vacuna acelular ha remplazado a la vacuna de células enteras en la serie de vacunas infantiles
   (C) Todos los niños debieran recibir cinco dosis de la vacuna antes de ingresar en la escuela
   (D) La vacuna está autorizada sólo para niños pequeños y adolescentes
   (E) La vacuna es menos riesgosa y tiene la misma inmunogenicidad que las vacunas de célula entera
9. ¿Cuál de las siguientes subespecies de *Francisella tularensis* es la más virulenta en el ser humano?
   (A) *tularensis*
   (B) *holarctica*
   (C) *mediasiatica*
   (D) *novicida*
10. Todas las siguientes aseveraciones con respecto al microorganismo causal del chancroide son correctas, *excepto:*
   (A) El microorganismo es un bacilo gramnegativo pequeño
   (B) El microorganismo necesita factor X pero no factor V
   (C) El microorganismo se multiplica bien en agar chocolate normalizado
   (D) En la tinción de Gram de las lesiones el microorganismo tiene una disposición en cordones
   (E) El microorganismo es susceptible a la eritromicina

Respuestas

1. D	4. B	7. C	10. C
2. B	5. A	8. D	
3. E	6. E	9. A	

BIBLIOGRAFÍA

Broder KR, et al Preventing tetanus, diphtheria, and pertussis among adolescents: Use of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid and acellular pertussis vaccines Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR Recomm Rep 2006;55(RR-3), 1.

Killian M: *Haemophilus.* In: *Manual of Clinical Microbiology,* 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Miscellaneous fastidious gram-negative bacilli. In: *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology,* 6th ed. Winn W Jr et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2006.

Murphy TF: *Haemophilus* species (including *H. influenzae* and chancroid). In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Nigrovic LE, Wingerter SL. Tularemia. Infect Dis Clin N Am 2008;22:489.

Pappas G et al: Brucellosis. N Engl J Med 2005;352:2325.

Penn RL: *Francisella tularensis* (tularemia). In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Waters V, Halperin S: *Bordetella* pertussis. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Young EJ: *Brucella* species. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 76th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.



CAPÍTULO

19

Yersinia y *Pasteurella*

Los microorganismos que se describen en este capítulo son bacilos gramnegativos cortos y polimorfos que pueden mostrar una tinción bipolar. Son productores de catalasa y oxidasa, microaerófilos o facultativamente anaerobios. La mayor parte tienen de hospedadores naturales a animales pero pueden producir enfermedad grave en el ser humano.

El género *Yersinia* comprende *Yersinia pestis,* el microorganismo causante de la peste; *Yersinia pseudotuberculosis* y *Yersinia enterocolitica*, causas importantes de enfermedades diarreicas en los seres humanos; y algunos otros considerados no patógenos para el ser humano. Varias especies de *Pasteurella* son patógenas principalmente en animales pero también pueden producir enfermedad en el ser humano.

YERSINIA PESTIS Y PESTE

La peste es una infección de roedores silvestres, que se transmite de un roedor a otro y en ocasiones de roedores a seres humanos por las picaduras de pulgas. A menudo se presenta infección grave, que en los siglos pasados producía pandemias de "muerte negra" con millones de fallecimientos. La capacidad de este microorganismo para transmitirse en aerosol y la gravedad y la gran mortalidad inherente a la peste neumónica, hizo de la *Y. pestis* un arma biológica potencial.

Morfología e identificación

Y. pestis es un bacilo gramnegativo que muestra una tinción bipolar notable con tinciones especiales (fig. 19-1). Es inmóvil. Crece como un anaerobio facultativo en muchos medios bacteriológicos. El desarrollo es más rápido en medios que contienen sangre o líquidos en los tejidos y aún más rápido a una temperatura de 30°C. En los cultivos realizados en agar sangre a una temperatura de 37°C, las colonias pueden ser muy pequeñas a las 24 h. Un inóculo virulento, derivado de tejido infectado, produce colonias grises y viscosas, pero después de atenuar su virulencia en el laboratorio las colonias se vuelven irregulares y rugosas. El microorganismo tiene escasa actividad bioquímica y ésta es un poco variable.

Estructura antigénica

Todas las yersinias poseen lipopolisacáridos que tienen actividad endotóxica cuando se liberan. Las tres especies patógenas producen antígenos y toxinas que actúan como factores de virulencia. Tienen sistemas de secreción de tipo III que constan de un complejo que se esparce por toda la membrana y que permite a las bacterias inyectar las proteínas directamente en el citoplasma de las células hospedadoras. Las yersinias virulentas producen antígenos V y W, que son codificadas por genes presentes en un plásmido de 70 kb, aproximadamente. Esto es esencial para la virulencia; los antígenos V y W generan las necesidades de calcio para multiplicarse a una temperatura de 37°C. En comparación con las demás yersinias patógenas, *Y. pestis* ha obtenido plásmidos adicionales. pPst es un plásmido de 9.5 kb que contiene genes que producen proteasa activadora de plasminógeno que tiene una actividad de coagulasa dependiente de la temperatura (20 a 28°C, la temperatura de la pulga) y actividad fibrinolítica (35 a 37°C, la temperatura del hospedador). Este factor interviene en la diseminación del organismo desde el lugar de inyección

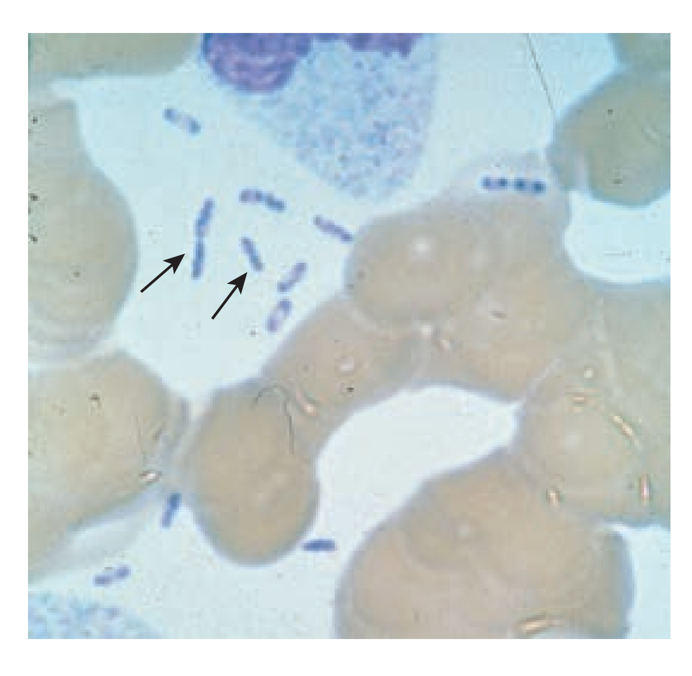


FIGURA 19-1 *Yersinia pestis* (flecha) en sangre. Tinción de Wright-Giemsa. Algunos de los microorganismos *Yersinia pestis* tienen tinción bipolar, lo que les confiere un aspecto similar a un alfiler. Aumento original × 1 000. (Cortesía de K Gage, Sección Peste, *Centers for Disease Control and Prevention*, Ft. Collins, CO.)

de la picadura de la pulga. El plásmido pFra/pMT (80 a 101 kb) codifica la proteína capsular (fracción F1) que es producida principalmente a una temperatura de 37°C y confiere propiedades antifagocíticas. Además, este plásmido contiene genes que codifican la fosfolipasa D, que es necesaria para la supervivencia del microorganismo en el intestino medio de la pulga.

Las tres yersinias patógenas tienen una isla de patogenicidad (PAI, *pathogenecity island*) que codifica a la yersiniabactina, un sideróforo depurador de hierro (cap. 9).

Entre las diversas exotoxinas producidas, una es mortal para los ratones en cantidades de 1 μg. Esta proteína homogénea (PM 74 000) produce antagonismo adrenérgico β y es cardiotóxica en los animales. Se desconoce su función en la infección de seres humanos.

Patogenia y anatomía patológica

Cuando una pulga se alimenta de un roedor infectado por *Y. pestis*, los microorganismos ingeridos se multiplican en el intestino de la pulga y, ayudados por la coagulasa, obstruyen su proventrículo de manera que no puede pasar alimento. Después, la pulga "obstruida" y hambrienta pica con fiereza y la sangre aspirada contaminada con *Y. pestis* de la pulga es regurgitada hacia la herida de la picadura. Los microorganismos inoculados pueden ser fagocitados por células polimorfonucleares y macrófagos. Los microorganismos de *Y. pestis* son destruidos por los leucocitos polimorfonucleares pero se multiplican en los macrófagos; puesto que las bacterias se multiplican a una temperatura de 37°C, producen la proteína antifagocítica y después pueden resistir a la fagocitosis. Los microorganismos patógenos rápidamente llegan a los linfáticos y sobreviene una inflamación hemorrágica intensa en los ganglios linfáticos crecidos, que pueden experimentar necrosis y volverse fluctuantes. Aunque la invasión puede detenerse ahí, los microorganismos de *Y. pestis* a menudo llegan a la circulación sanguínea y se diseminan ampliamente. Las lesiones hemorrágicas y necróticas se presentan en todos los órganos; la meningitis, la neumonía y la pleuropericarditis serosanguinolenta son manifestaciones destacadas.

La peste neumónica primaria se debe a la inhalación de gotitas infecciosas (por lo general de un paciente que tose), con consolidación hemorrágica, septicemia y muerte.

Manifestaciones clínicas

Después de un periodo de incubación de dos a siete días, se presentan fiebre alta y linfadenopatía dolorosa, por lo general con ganglios linfáticos muy adenomegálicos (bubones) en la ingle o en las axilas. El vómito y la diarrea se presentan con la infección en etapa inicial. Más tarde, la coagulación intravascular diseminada desencadena hipotensión, alteraciones del estado mental e insuficiencia cardiaca renal. En etapa terminal, puede haber signos de neumonía y meningitis y *Y. pestis* se multiplica dentro de los vasos y puede detectarse en frotis sanguíneos.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Se debe sospechar la peste en pacientes con fiebre que han estado expuestos a roedores en zonas endémicas conocidas. Es esencial el reconocimiento rápido y la confirmación de la enfermedad mediante análisis de laboratorio a fin de instaurar el tratamiento que salva la vida del paciente.

A. Muestras

Se obtienen sangre para cultivo y aspirados de los ganglios linfáticos aumentados de tamaño para frotis y cultivo. Se pueden analizar sueros de fase aguda y convalecientes para determinar las concentraciones de anticuerpos. En la neumonía, se cultiva el esputo; ante una posible meningitis, se obtiene líquido cefalorraquídeo para frotis y cultivo.

B. Frotis

Y. pestis son bacilos gramnegativos pequeños que aparecen como células individuales o pares o cadenas cortas en material clínico. Las tinciones de Wright, Giemsa o Wayson pueden ser de mayor utilidad cuando se tiñe material de un probable bubón o de un hemocultivo positivo por su aspecto bipolar característico (forma en alfiler de seguridad) de estos microorganismos con estos métodos de tinción, lo que no ocurre con la tinción de Gram directa.

Los métodos de tinción directa más específicos (posiblemente disponibles a través de laboratorios de referencia) comprenden el empleo de tinciones de anticuerpos fluorescentes dirigidas al antígeno F1 capsular.

C. Cultivo

Todas las muestras se cultivan en agar sangre, chocolate y discos de agar de MacConkey y en caldo de infusión de cerebro y corazón. El crecimiento en los medios sólidos puede ser lento y necesitar más de 48 h, pero los hemocultivos suelen ser positivos en 24 h. Se pueden identificar tentativamente los cultivos mediante reacciones bioquímicas. *Y. pestis* produce colonias no fermentadoras de lactosa en agar de MacConkey y crece mejor a una temperatura de 28°C que a 37°C. El microorganismo produce catalasa; no produce indol, oxidasa ni ureasa, y es inmóvil. Las últimas dos reacciones son útiles para distinguir *Y. pestis* de otras yersinias patógenas. Un microorganismo con las características antes mencionadas debe remitirse a un laboratorio de salud pública para realizar pruebas más confirmadoras. Es mejor realizar la identificación definitiva de los cultivos mediante inmunofluorescencia o mediante lisis con un bacteriófago específico de *Y. pestis* (se dispone de la confirmación a través de los laboratorios del Departamento Estatal de Salud y mediante la consulta a los *Centers for Disease Control and Prevention* , Sección Peste, Fort Collins, CO, Estados Unidos).

Todos los cultivos son muy infecciosos y se deben manejar con precaución extrema en el interior de una cabina de seguridad biológica.

D. Diagnóstico serológico

En los pacientes no vacunados, un título de anticuerpo en suero de fase convaleciente de 1:16 o más es prueba presuntiva de infección por *Y. pestis.* Un incremento de los títulos en dos muestras sucesivas confirma el diagnóstico serológico.

Tratamiento

Si no se trata con rapidez, la peste puede tener una tasa de mortalidad de casi 50%; la peste neumónica, de alrededor de 100%. El microorganismo de elección es la estreptomicina, pero se ha demostrado que el aminoglucósido gentamicina es eficaz, más fácilmente disponible. La doxiciclina es un fármaco alternativo y a veces se administra en combinación con la estreptomicina. Se ha observado resistencia al fármaco en *Y. pestis.*

Epidemiología y control

La peste es una infección de roedores silvestres (ratones de campo, ciervos, topos, zorrillos y otros animales) que ocurre en muchas partes del mundo. Las principales zonas enzoóticas son India, sureste de Asia (sobre todo Vietnam), África y Norteamérica y Sudamérica. Los estados occidentales de Estados Unidos y México siempre contienen reservorios de la infección. Las epizootias con tasas de mortalidad elevadas se presentan en forma intermitente; en tales ocasiones, la infección puede diseminarse a roedores domésticos (p. ej., ratas) y otros animales (p. ej., gatos); el ser humano puede infectarse con picaduras de pulgas o por el contacto. El vector más frecuente de la peste es la pulga de la rata (*Xenopsylla cheopis*), pero otras pulgas también pueden transmitir la infección.

Para el control de la peste es necesaria la vigilancia de animales infectados, vectores y contactos humanos (en Estados Unidos esto lo realizan los organismos de condados y estatales con el apoyo de la Sección Peste de los *Centers for Disease Control and Prevention*) y el sacrificio de los animales infectados con peste. Si se diagnostica un caso humano, se debe notificar a las autoridades sanitarias con rapidez. Se debe aislar a todos los pacientes con sospecha de peste, sobre todo si no se ha descartado la afectación pulmonar. Todas las muestras se deben manejar con extrema precaución. Los contactos de pacientes con peste neumónica sospechada deben recibir dosis de doxiciclina como profilaxis.

Ya no se dispone de vacunas de células enteras de microorganismos muertos. En la actualidad se están desarrollando múltiples vacunas por las preocupaciones en torno al bioterrorismo.

YERSINIA ENTEROCOLITICA Y *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS*

Son bacilos gramnegativos no fermentadores de lactosa que producen ureasa y no producen oxidasa. Crecen mejor a una temperatura de 25°C y son móviles a 25°C pero no a 37°C. Se detectan en el tubo digestivo de diversos animales en los cuales pueden causar enfermedad y son transmisibles al ser humano en quien pueden producir una amplia gama de síndromes clínicos.

Existen más de 50 serotipos de *Y. enterocolitica*; la mayor parte de las cepas de la enfermedad humana pertenecen a los serotipos O:3, O:8 y O:9. Hay diferencias geográficas notables en la distribución de los serotipos de *Y. enterocolitica.* Se conocen por lo menos seis serotipos *Y. pseudotuberculosis* pero el serotipo O:1 contribuye a la mayor parte de las infecciones humanas. *Y. enterocolitica* puede producir una enterotoxina termoestable, pero no está bien definida la función de esta toxina en la diarrea relacionada con la infección.

Se ha aislado *Y. enterocolitica* de roedores y animales domésticos (p. ej., ovejas, ganado vacuno, cerdos, perros y gatos) y en aguas contaminadas por ellos. La transmisión al ser humano probablemente ocurre por la contaminación de alimento, las bebidas o los fómites. *Y. pseudotuberculosis* infesta animales domésticos y de granjas así como aves, que excretan el microorganismo en las heces. La infección en seres humanos probablemente se debe a la ingestión de materiales contaminados con heces de animales. La transmisión de persona a persona de cualquiera de estos microorganismos probablemente es rara.

Patogenia y manifestaciones clínicas

Un inóculo de 10^8 a 10^9 yersinias debe entrar en el tubo digestivo para producir infección. Durante el periodo de incubación de cuatro a siete días, las yersinias se multiplican en la mucosa intestinal, sobre todo en el íleon. Esto desencadena inflamación y ulceración y aparecen leucocitos en las heces. El proceso puede extenderse a los ganglios linfáticos mesentéricos y algunas veces ocasiona bacteriemia.

Los síntomas iniciales consisten en fiebre, dolor abdominal y diarrea. La diarrea fluctúa desde líquida hasta sanguinolenta y puede deberse a una enterotoxina o a la invasión de la mucosa. En ocasiones, el dolor abdominal es intenso y localizado en la fosa iliaca derecha, indicativo de una posible apendicitis. Una a dos semanas después del inicio, algunos pacientes con antígeno de histocompatibilidad de HLA-B 27 presentan artralgias, artritis y eritema nodular, lo que señala una reacción inmunitaria a la infección. Muy pocas veces, la infección por *Yersinia* produce neumonía, meningitis o septicemia; en la mayor parte de los casos cede en forma espontánea.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras pueden ser heces, sangre o material obtenido en la exploración quirúrgica. Los frotis teñidos no contribuyen con información útil.

B. Cultivo

El número de yersinias en las heces puede ser pequeño e incrementarse mediante "enriquecimiento con frío": una pequeña cantidad de heces o de un frotis rectal se coloca en solución salina amortiguada, a un pH de 7.6, y se mantiene a una temperatura de 4°C durante dos a cuatro semanas; muchos microorganismos fecales no sobreviven, pero *Y. enterocolitica* se multiplicará. Los subcultivos elaborados a intervalos en agar de MacConkey pueden producir yersinias.

C. Diagnóstico serológico

En muestras de sueros pares obtenidos a un intervalo de dos semanas o más, se puede demostrar una elevación de los anticuerpos aglutinantes; sin embargo, las reacciones cruzadas entre yersinias y otros microorganismos (vibrios, salmonelas y brucelas) pueden confundir los resultados.

Tratamiento

La mayor parte de las infecciones por *Yersinia* que cursan con diarrea ceden en forma espontánea y se desconocen los posibles beneficios del tratamiento antimicrobiano. *Y. enterocolitica* suele ser susceptible a aminoglucósidos, cloranfenicol, tetraciclina, trimetoprim-sulfametoxazol, piperacilina, cefalosporinas de tercera generación y fluoroquinolonas; suele ser resistente a ampicilina y cefalosporinas de tercera generación. La septicemia o meningitis por *Yersinia* confirmadas tienen una elevada tasa de mortalidad, pero los decesos se presentan principalmente en pacientes inmunodeficientes. La septicemia por *Yersinia* se puede tratar de manera satisfactoria con cefalosporinas de tercera generación (posiblemente en combinación con un aminoglucósido) o una fluoroquinolona (puede ser en combinación con

otro antimicrobiano). En casos en los que las manifestaciones clínicas son muy sugestivas de una apendicitis o una adenitis mesentérica, la exploración quirúrgica ha sido la regla, a menos que varios casos simultáneos indiquen que es probable la infección por *Yersinia.*

Prevención y control

El contacto con animales de granja y domésticos, sus heces o materiales contaminados por ellos puede contribuir a la mayor parte de las infecciones humanas. La carne y los productos lácteos esporádicamente se han señalado como fuentes de infección y se han identificado brotes epidémicos originados en alimentos o bebidas contaminados. Las precauciones sanitarias tradicionales probablemente son útiles. No se cuenta con medidas preventivas específicas.

PASTEURELLA

Las especies de *Pasteurella* son patógenas principalmente en animales, pero pueden producir diversas enfermedades en seres humanos. El término genérico pasteurelas antes comprendía a todas las especies de los géneros *Yersinia* y *Francisella* así como las pasteurelas descritas más adelante.

Las pasteurelas son cocobacilos gramnegativos no móviles con un aspecto bipolar en los frotis teñidos. Son aerobios o anaerobios facultativos que se multiplican fácilmente en medios bacteriológicos ordinarios a una temperatura de 37°C. Todos producen oxidasa y catalasa pero difieren en otras reacciones bioquímicas.

Pasteurella multocida se presenta en todo el mundo en los aparatos respiratorio y digestivo de muchos animales domésticos y silvestres. Tal vez es el microorganismo más frecuente en heridas humanas infligidas por mordeduras de gatos y perros. Es una de las causas frecuentes de septicemia hemorrágica en diversos animales, tales como conejos, ratas, caballos, ovejas, aves de corral, gatos y cerdos. También puede producir infecciones en seres humanos en muchos sistemas y a veces ser parte de la microflora humana normal.

Se ha aislado *Pasteurella bettyae* en infecciones del sistema genital humano y en recién nacidos. Su hábitat es dudoso.

Pasteurella pneumotropica es un residente normal del aparato respiratorio y del intestino de ratones y ratas y puede ser causa de neumonía o septicemia cuando se altera el equilibrio del hospedador y el parásito. En seres humanos se han presentado algunas infecciones después de mordeduras por animales.

Pasteurella ureae pocas veces se ha identificado en animales pero ocurre como parte de una microflora mixta en enfermedades respiratorias crónicas del ser humano u otras infecciones purulentas.

Manifestaciones clínicas

La presentación más frecuente es un antecedente de una mordedura por un animal que a las pocas horas se acompaña de la aparición aguda de eritema, edema y dolor. La linfadenopatía regional es variable y la fiebre a menudo es de bajo grado. Las infecciones por *Pasteurella* a veces se presentan como bacteriemia o infección respiratoria crónica sin un vínculo evidente con los animales.

P. multocida es sensible a casi todos los antibióticos. Penicilina G se considera el fármaco de elección para las infecciones por *P. multocida* como resultado de mordeduras de animales. Las tetraciclinas y las fluoroquinolonas son fármacos alternativos.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un joven de 18 años de edad residente de Arizona acudió al servicio de urgencias por presentar fiebre, dolor en su ingle izquierda y diarrea de dos días de evolución. En la exploración física, estaba afebril, tenía una frecuencia cardiaca de 126/min, frecuencia respiratoria de 20/min y presión arterial de 130/80 mmHg. Se observó edema e hipersensibilidad dolorosa en la ingle izquierda. Se diagnosticó un esguince del músculo inguinal, que se atribuyó a una caída ocurrida dos días antes. Se le trató con antiinflamatorios no esteroideos y se le dio de alta. Al día siguiente, el paciente comunicó sentirse débil, tenía dificultad para respirar y se desmayó mientras tomaba una ducha. Fue transportado al servicio de urgencias de un hospital y se declaró muerto poco después de su llegada. Los cultivos de las muestras de sangre que se obtuvieron en el servicio de urgencias fueron positivos para *Y. pestis.* Una investigación epidemiológica indicó que el paciente muy posiblemente se infectó como resultado de picaduras por pulgas infectadas por *Yersinia pestis* mientras caminaba a través de una colonia de marmotas. (cap. 48). ¿Cuál de las siguientes aseveraciones sobre la patogenia de la peste es correcta?
   (A) *Yersinia pestis* produce una coagulasa cuando se incuba a una temperatura de 28°C
   (B) No hay riesgo de neumonía causada por la transmisión interpersonal de *Yersinia pestis*
   (C) Los microorganismos de *Yersinia pestis* se multiplican en leucocitos polimorfonucleares
   (D) Tras la mordedura de una pulga infectada, la infección por *Yersinia pestis* pocas veces en el peor de los casos se disemina más allá del lugar de la mordedura por la pulga y los ganglios linfáticos regionales
   (E) *Yersinia pestis* es transmitida a animales (y seres humanos) en las heces que excreta la pulga cuando se alimenta
2. El fármaco de elección para tratar al paciente de la pregunta 1 habría sido
   (A) Ampicilina
   (B) Cefotaxima
   (C) Levofloxacina
   (D) Eritromicina
   (E) Estreptomicina
3. *Yersinia pestis* entró en Norteamérica a través de San Francisco en la década de 1990, transportada por las ratas en los buques que habían zarpado de Hong Kong, donde ocurrió una epidemia de peste. El reservorio actual de *Yersinia pestis* en Estados Unidos es
   (A) Gatos silvestres urbanos
   (B) Ratas urbanas
   (C) Vacas domésticas
   (D) Coyotes
   (E) Roedores silvestres rurales
4. ¿Cuál de los siguientes en general no se considera un microorganismo potencial para bioterrorismo y guerra biológica?
   (A) *Yersinia pestis*
   (B) Toxina botulínica
   (C) *Streptococcus pyogenes*
   (D) Especies del género *Brucella*
   (E) *Bacillus anthracis*
5. Un niño de ocho años de edad fue mordido por un gato vagabundo. Dos días más tarde la herida estaba eritematosa y edematosa y

drenaba un líquido purulento. Se cultivó *Pasteurella multocida* de la herida. El fármaco de elección para tratar esta infección es

(A) Amikacina
(B) Eritromicina
(C) Gentamicina
(D) Penicilina G
(E) Clindamicina

6. ¿Cuál de los siguientes fármacos deberían recibir los contactos cercanos de pacientes con peste neumónica sospechada, como quimioprofilaxis?

(A) Gentamicina
(B) Cefazolina
(C) Rifampicina
(D) Penicilina
(E) Doxiciclina

7. En un paciente con peste bubónica, las siguientes muestras son aceptables para el diagnóstico, *excepto:*

(A) Coprocultivo en agar entérico de Hektoen
(B) Hemocultivo con medios de laboratorio sistemáticos
(C) Cultivos de un aspirado de ganglio linfático en agar sangre y agar de MacConkey
(D) Estudio serológico de suero de fase aguda y convaleciente
(E) Tinción inmunohistoquímica de tejido de ganglio linfático

8. Todas las siguientes aseveraciones con respecto al plásmido de pFra/pMT de *Yersinia pestis* son correctas, *excepto:*

(A) Codifica la proteína capsular (fracción F1) que confiere propiedades antifagocíticas
(B) Contiene genes que producen la proteasa activadora de plasminógeno que tiene una actividad de coagulasa dependiente de la temperatura
(C) Contiene genes que codifican la síntesis de fosfolipasa D que es necesaria para la supervivencia del microorganismo en el intestino medio de la pulga
(D) Es singular de *Yersinia pestis*
(E) Codifica factores que son importantes para la supervivencia tanto en la pulga como en el ser humano

9. Todas las siguientes aseveraciones con respecto a la epidemiología de las infecciones causadas por *Yersinia enterocolitica* son correctas, *excepto:*

(A) La mayor parte de las infecciones humanas son causadas por el serotipo O:1
(B) Los seres humanos adquieren la infección por la ingestión de alimentos o bebidas contaminados por animales o productos animales
(C) La propagación entre las personas es muy frecuente
(D) Es necesario un inóculo considerable para causar infección
(E) La infección es más frecuente en personas con antígeno de histocompatibilidad HLA-B 27

10. ¿Cuál de las siguientes especies del género *Pasteurella* se ha relacionado con infecciones del aparato genital femenino y de recién nacidos?

(A) *Pasteurella multocida*
(B) *Pasteurella pneumotropica*
(C) *Pasteurella ureae*
(D) *Pasteurella bettyae*

Respuestas

1. A	4. C	7. A	10. D
2. E	5. D	8. B	
3. E	6. E	9. C	

BIBLIOGRAFÍA

Dennis DT, Mead PS: *Yersinia* species, including plague. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Prentice MB, Rahalson L: Plague. Lancet 2007;369:1196-1207.

von Graevenitz A, Zbinden R, Mutters R: *Actinobacillus, Capnocytophaga, Eikenella, Kingella, Pasteurella,* and other fastidious or rarely encountered gram-negative rods. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Wanger A: *Yersinia*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Zurlo JJ: *Pasteurella* species. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.



C A P Í T U L O

20

Neisserias

La familia *Neisseriaceae* comprende los géneros *Neisseria, Kingella, Eikenella, Simonsiella* y *Alysiella* (cap. 16). Las neisserias son cocos gramnegativos que suelen disponerse en pares. *Neisseria gonorrhoeae* (gonococo) y *Neisseria meningitidis* (meningococos) son patógenos para el ser humano y suelen identificarse vinculados a los leucocitos polimorfonucleares o en el interior de los mismos. Algunas neisserias son residentes normales del sistema respiratorio humano, pocas veces en el peor de los casos producen enfermedad y residen fuera de células. En el cuadro 20-1 se enumeran los miembros del grupo.

Los gonococos y los meningococos están relacionados en forma estrecha, tienen una homología de DNA de 70% y se diferencian mediante algunos análisis de laboratorio y características específicas: los meningococos a diferencia de los gonococos tienen cápsulas de polisacárido y pocas veces tienen plásmidos; la mayor parte de los gonococos sí contienen plásmidos. Es muy importante que las dos especies se distingan por las manifestaciones clínicas habituales de las enfermedades que producen: los meningococos por lo común se detectan en las vías respiratorias altas y causan meningitis, en tanto que los gonococos ocasionan infecciones gonocócicas. No obstante, se superponen los cuadros clínicos de las enfermedades producidas por ambos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las neisserias características son diplococos gramnegativos inmóviles de casi 0.8 μm de diámetro (figs. 20-1 y 20-2). Los cocos individuales tienen forma de riñón; cuando los microorganismos están en pares, los lados planos o cóncavos están adyacentes.

B. Cultivo

Los gonococos y meningococos forman colonias convexas, brillantes, elevadas y mucoides de 1 a 5 mm de diámetro, en medios enriquecidos (p. ej., de Martin Thayer modificado, de Martin-Lewis, GC-Lect y New York City) en 48 h. Las colonias son transparentes u opacas, no pigmentadas y no hemolíticas. *Neisseria flavescens, Neisseria cinerea, Neisseria subflava* y *Neisseria lactamica* pueden tener una pigmentación amarilla. *Neisseria sicca* produce colonias opacas, frágiles y arrugadas. *M. catarrhalis* produce colonias no pigmentadas o de color gris a rosado opaco.

C. Características de crecimiento

Las neisserias crecen mejor en condiciones aeróbicas, pero algunas lo hacen en un medio anaeróbico. Necesitan sustancias complejas para crecer. La mayor parte de las neisserias oxidan hidratos de carbono, produciendo ácido pero no gas y sus tipos de hidratos de carbono son un medio para distinguirlas (cuadro 20-1). Las neisserias producen oxidasa y son oxidasa positivas; la prueba de oxidasa es clave para su identificación. Cuando se colocan las bacterias en un papel filtro empapado con clorhidrato de tetrametilparafenilenediamina (oxidasa), las neisserias adoptan un color púrpura oscuro con rapidez.

Los meningococos y los gonococos crecen mejor en medios que contienen sustancias orgánicas complejas como sangre calentada, hemina y proteínas animales y en una atmósfera que contiene CO_2 al 5% (p. ej., frasco con vela). Su crecimiento se inhibe por algunos componentes tóxicos presentes en el medio, por ejemplo, ácidos grasos o sales. Los microorganismos se destruyen con rapidez por el secamiento, la luz solar, el calor húmedo y muchos desinfectantes. Producen enzimas autolíticas que dan por resultado hinchazón rápida y lisis *in vitro* a una temperatura de 25°C y con un pH alcalino.

NEISSERIA GONORRHOEAE

Los gonococos oxidan sólo glucosa y tienen antígenos diferentes a los de otras neisserias. Por lo general producen colonias más pequeñas que las demás neisserias. Los gonococos que necesitan arginina, hipoxantina y uracil (auxotipos Arg^-, Hyx^- y Ura^-) tienden a crecer con más lentitud en el cultivo primario. Los gonococos aislados de muestras clínicas o conservados mediante subcultivo selectivo tienen pequeñas colonias típicas que contienen bacterias con pilosidades. En el subcultivo no selectivo también se forman colonias más grandes que contienen gonococos sin pilosidades.

También se observan variantes opacas y transparentes tanto de las colonias pequeñas como de las grandes; las colonias opacas se relacionan con la presencia de una proteína expuesta a la superficie, Opa.

Estructura antigénica

N. gonorrhoeae es antigénicamente heterogénea y capaz de modificar sus estructuras superficiales *in vitro* y probablemente *in*

CUADRO 20-1 Reacciones bioquímicas de Neisseriae y *Moraxella catarrhalis*

	Crecimiento en MTM, ML o medio de NYC[a]	Ácido formado a partir de				DNAasa
		Glucosa	Maltosa	Lactosa	Sacarosa o fructosa	
Neisseria gonorrhoeae	+	+	–	–	–	–
Neisseria meningitidis	+	+	+	–	–	–
Neisseria lactamica	+	+	+	+	–	–
Neisseria sicca	–	+	+	–	+	–
Neisseria subflava	–	+	+	–	±	–
Neisseria mucosa	–	+	+	–	+	–
Neisseria flavescens	–	–	–	–	–	–
Neisseria cinerea	±	–	–	–	–	–
Neisseria polysaccharea	±	+	+	–	–	–
Neisseria elongata	–	–/w	–	–	–	–
Moraxella catarrhalis	–	–	–	–	–	+

[a]MTM, medio de Thayer-Martin modificado; ML, medio de Martin-Lewis; NYC, medio New York City.

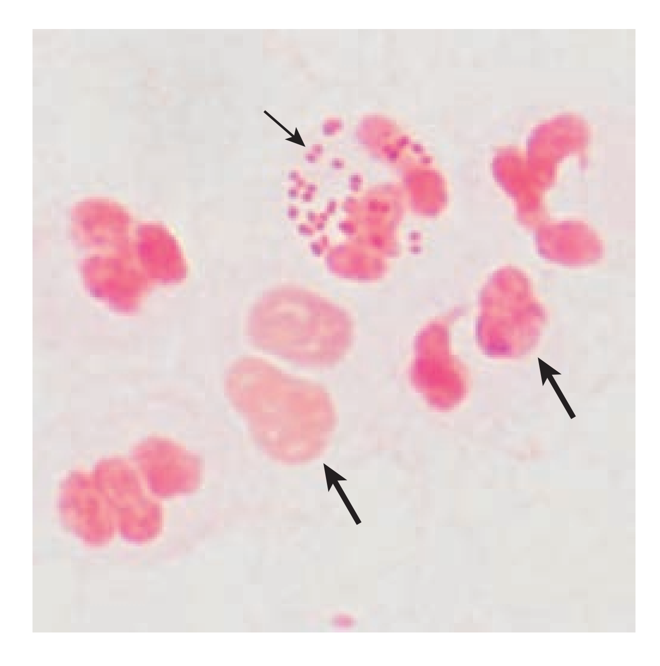


FIGURA 20-1 Tinción de Gram de un exudado uretral de un paciente con gonorrea. Se observan núcleos de muchos leucocitos polimorfonucleares (*flechas grandes*). Los diplococos gramnegativos intracelulares (*Neisseria gonorrhoeae*) en un leucocito polimorfonuclear están señalados con la *flecha pequeña*.

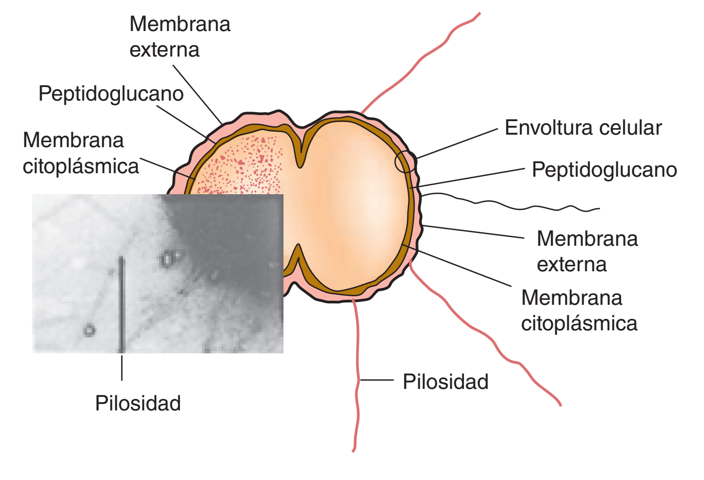


FIGURA 20-2 Collage y dibujo de *Neisseria gonorrhoeae* que muestra pilosidades y las tres capas de la envoltura celular.

vivo (para evadir las defensas del hospedador). Las estructuras de la superficie comprenden las siguientes.

A. Pilosidades (fimbrias)

Las pilosidades son los apéndices pilosos que se proyectan hasta varios micrómetros desde la superficie del gonococo. Facilitan la adherencia a las células hospedadoras y la resistencia a la fagocitosis. Están constituidas por proteínas de pilina apiñadas (PM 17 000 a 21 000). Se conserva el amino terminal de la molécula de pilina, que contiene un gran porcentaje de aminoácidos hidrófobos. También se conserva la secuencia de aminoácido cerca de la porción media de la molécula. Esta porción de la molécula sirve para la adherencia a las células hospedadoras y es menos prominente en la respuesta inmunitaria. La secuencia de aminoácido cercana al dominio carboxiterminal es muy variable; esta porción de la molécula es muy prominente en la respuesta inmunitaria. Las pilinas de casi todas las cepas de *N. gonorrhoeae* son antigénicamente diferentes y una sola cepa puede elaborar muchas formas de pilina antigénicamente diversas.

B. Proteína Por

La proteína Por se extiende a través de la membrana celular del gonococo. Tiene una disposición en trímeros para formar poros en la superficie a través de los cuales algunos nutrimentos

entran en la célula. Las proteínas Por pueden repercutir en la citólisis intracelular de los gonococos dentro de los neutrófilos mediante la prevención de la fusión del fagosoma y el lisosoma. Además, la resistencia variable de los gonococos a la destrucción por suero humano normal depende de la fijación selectiva de la proteína Por a los componentes del complemento C3b y C4b. El peso molecular de Por varía de 32 a 36 kDa. Cada cepa de gonococo expresa sólo uno de dos tipos de proteína Por, pero la Por de diferentes cepas es antigénicamente diferente. La tipificación serológica de la proteína Por mediante las reacciones de aglutinación con anticuerpos monoclonales ha distinguido 18 serovariedades de PorA y 28 serovariedades de PorB. (La serotipificación se realiza sólo en laboratorios de referencia.)

C. Proteínas Opa

Estas proteínas intervienen en la adhesión de gonococos dentro de las colonias y en la adherencia de los gonococos a los receptores de la célula hospedadora, como, por ejemplo, los compuestos relacionados con la heparina y CD66 o las moléculas de adhesión celular relacionadas con antígeno carcinoembrionario. Una porción de la molécula Opa se halla en la membrana externa del gonococo y la restante está expuesta en la superficie. El peso molecular de la proteína Opa fluctúa de 20 a 28 kDa. Una cepa de gonococo puede expresar ninguno, uno, dos o a veces tres tipos de Opa, aunque cada cepa tiene 11 o 12 genes para diferentes proteínas Opa.

D. Rmp (proteína III)

Esta proteína (PM 30 a 31 kDa) está antigénicamente conservada en todos los gonococos. Es una proteína de reducción modificable (Rmp, *reduction-modifiable protein*) y modifica su peso molecular evidente cuando se halla en un estado reducido. Se asocia a la proteína Por en la formación de los poros en la superficie celular.

E. Lipooligosacárido

En comparación con los bacilos gramnegativos entéricos (caps. 2 y 15), el lipopolisacárido (LPS, *lipopolysaccharide*) gonocócico no tiene cadenas laterales largas de antígeno O y se denomina un lipooligosacárido. Su peso molecular es de 3 a 7 kDa. Los gonococos pueden expresar en forma simultánea más de una cadena de lipooligosacárido (LOS, *lipooligosaccharide*) antigénicamente diferente. La toxicidad en las infecciones gonocócicas en gran parte se debe a los efectos endotóxicos de LOS. En concreto, en el modelo de explante de trompa de Falopio, los lipooligosacáridos producen pérdida de los cilios y muerte de la célula de la mucosa.

En una forma de mimetismo molecular, los gonococos elaboran moléculas de lipooligosacáridos que estructuralmente se parecen a los glucoesfingolípidos de la membrana celular humana. En la figura 20-3 se ilustra una estructura. El lipooligosacárido gonocócico y el glicoesfingolípido humano de la misma clase estructural reaccionan con el mismo anticuerpo monoclonal, lo que indica el mimetismo molecular. La presencia de las mismas estructuras de superficie de las células humanas en la superficie gonocócica ayuda a los gonococos a evadir el reconocimiento inmunitario.

La galactosa terminal de los glucoesfingolípidos humanos suele conjugarse con ácido siálico. El ácido siálico es un ácido 5-*N*-acetilado quetulosónico de nueve carbonos también denominado ácido *N*-acetilneuramínico (NANA, *N-acetylneuraminic acid*). Los gonococos no elaboran ácido siálico pero elaboran una sialiltransferasa que funciona tomando el NANA del glúcido nucleótido humano ácido citidina 5′-monofosfo-*N*-acetilneuramínico (CMPNANA) e inserta el NANA en la galactosa terminal de un lipooligosacárido de aceptor gonocócico. Esta sialilación afecta a la patogenia de la infección gonocócica. Hace que los gonococos sean resistentes a la destrucción por el sistema de anticuerpo y complemento humano e interfiere en la unión de los gonococos a los receptores en las células fagocíticas.

Neisseria meningitidis y *Haemophilus influenzae* elaboran muchas pero no todas las mismas estructuras de los lipooligosacáridos que *N. gonorrhoeae.* Las características biológicas de los lipooligosacáridos para las tres especies y para algunas de las especies de *Neisseria* no patógenas son similares. Cuatro de los diversos serogrupos de *N. meningitidis* elaboran diferentes cápsulas de ácido siálico (véase adelante), lo que indica que también tienen vías biosintéticas diferentes a las de los gonococos. Estos cuatro serogrupos producen sialilación de sus lipooligosacáridos utilizando ácido siálico de sus reservas endógenas.

F. Otras proteínas

Varias proteínas antigénicamente constantes de gonococos tienen funciones mal definidas en la patogenia. **Lip (H8)** es una proteína expuesta de la superficie que es termomodificable como Opa. La proteína fijadora de hierro **Fbp** (***ferric-binding protein***), similar en peso molecular a la proteína Por, se expresa cuando es limitada la reserva de hierro disponible, por ejemplo, en caso de una infección humana. Los gonococos elaboran una **proteasa de IgA1** que desdobla e inactiva IgA1, una inmunoglobulina importante de la mucosa de seres humanos. Los meningococos, *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* elaboran proteasas de IgA1 similares.

Genética y heterogeneidad antigénica

Los gonococos han desarrollado mecanismos para la variación frecuente de una forma antigénica (pilina, Opa o LPS) a otra forma antigénica de la misma molécula. Esta variación ocurre en uno de cada $10^{2.5}$ a 10^{3} gonococos, una tasa extremadamente rápida de cambio para las bacterias. Puesto que la pilina, la Opa y el LPS son antígenos expuestos en la superficie de los gonococos, son importantes en la respuesta inmunitaria a la infección. La variación rápida de las moléculas de una forma antigénica a otra ayuda a los gonococos a evadir el sistema inmunitario del hospedador.

El mecanismo de variación para la pilina, que ha sido la estudiada con mayor detalle, es diferente del mecanismo para la proteína Opa.

Los gonococos tienen múltiples genes que codifican la síntesis de pilina, pero sólo un gen se inserta en el lugar de expresión. Los gonococos pueden retirar todo o parte de este gen de la pilina y remplazarlo con todo o parte de otro gen de la pilina. Este mecanismo permite a los gonococos expresar con el tiempo muchas moléculas de pilina antigénicamente diferentes.

El mecanismo de variación de Opa implica, por lo menos en parte, la adición o la extracción del DNA de una o más de las repeticiones de codificación pentaméricas que preceden a la secuencia que codifica la síntesis del gen de Opa estructural. Se desconoce el mecanismo de variación del LPS.

En el cuadro 20-2 se muestran los antígenos y la heterogeneidad de los tipos.

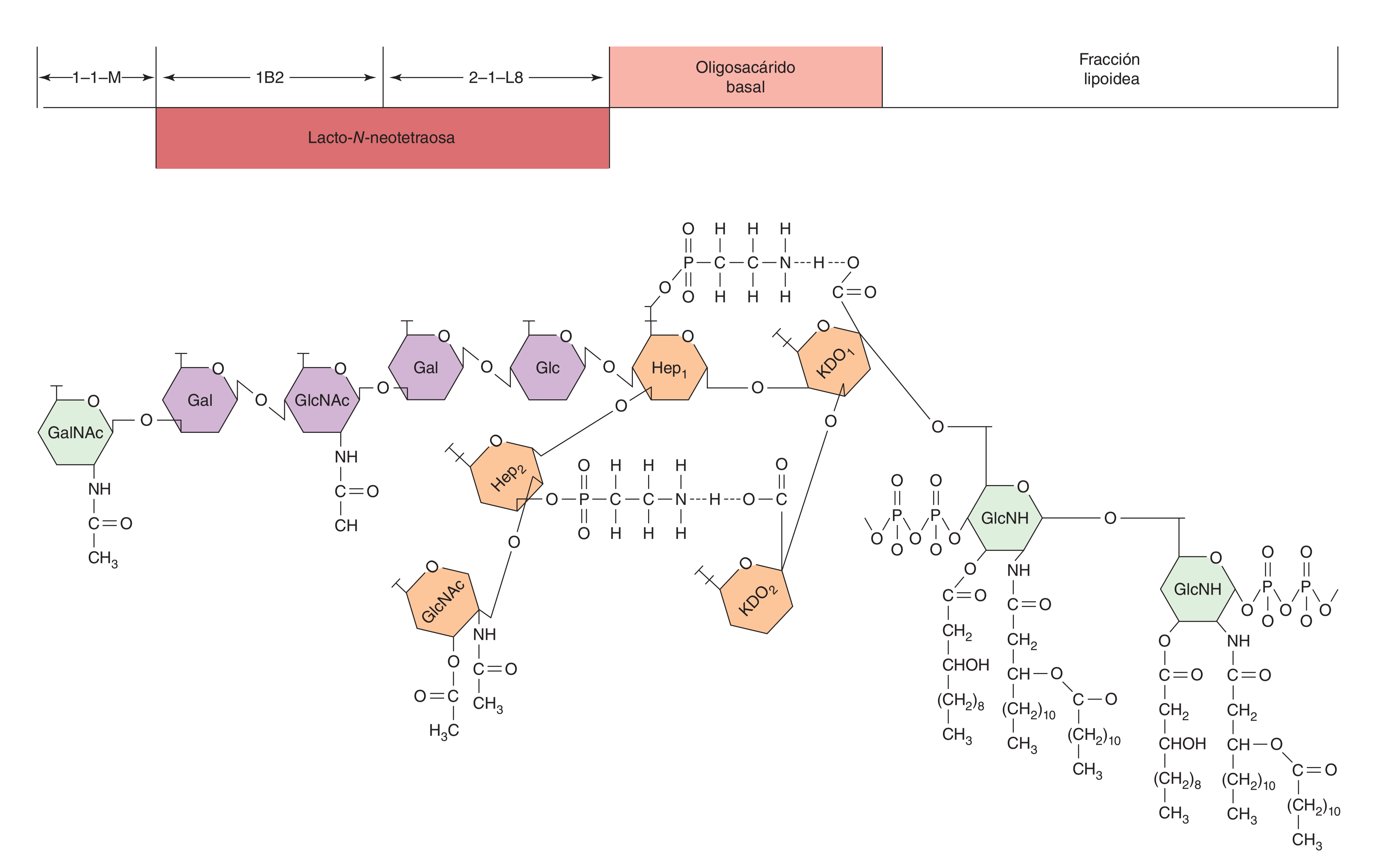


FIGURA 20-3 Estructura de lipooligosacárido gonocócico que tiene lacto-*N*-neotetraosa y una galactosamina terminal en una estructura similar a la serie de glucoesfingolípidos de gangliósido humano. El oligosacárido basal se ilustra en rojo claro y la lacto-*N*-neotetraosa en rojo oscuro. (Cortesía de JM Griffiss.)

CUADRO 20-2 Heterogeneidad antigénica de *Neisseria gonorrhoeae*

Antígeno	Número de tipos
Pilina	Centenares
Por (proteína) (sistema de Estados Unidos)	Por A con 18 subtipos Por B con 28 subtipos
Opa (proteína 2)	Muchos (tal vez centenares)
RMP (proteína 3)	Uno
Lipooligosacárido	Ocho o más
FBP (proteína fijadora de hierro)	Uno
Lip (H8)	Uno
Proteasa de IgA1	Dos

Los gonococos contienen varios plásmidos; 95% de las cepas tienen un plásmido pequeño "críptico" (PM 2.4×10^6) de función desconocida. Otros dos plásmidos (PM 3.4×10^6 y 4.7×10^6) contienen genes que codifican la síntesis de lactamasas β del tipo TEM-1 (penicilinasas), lo que produce resistencia a la penicilinasa.

Estos plásmidos son transmisibles por conjugación entre los gonococos; son similares a un plásmido que contiene *Haemophilus* productor de penicilinasa y puede haberse adquirido de *Haemophilus* u otros microorganismos gramnegativos. Cinco a 20% de los gonococos contienen un plásmido (PM 24.5×10^6) con los genes que codifican la conjugación; la ocurrencia es mayor en zonas geográficas donde son más frecuentes los gonococos productores de penicilinasa. La gran resistencia a la tetraciclina (concentraciones inhibidoras mínimas [MIC] ≥16 mg/L) se ha desarrollado en los gonococos por la inserción de un gen estreptocócico *tetM* que codifica la resistencia a la tetraciclina en el plásmido conjugativo.

Patogenia, histopatología y manifestaciones clínicas

Los gonococos muestran varios tipos morfológicos de colonias (véase antes), pero al parecer sólo las bacterias con pilosidades son virulentas. La expresión de la proteína Opa varía dependiendo del tipo de infección. Los gonococos que forman colonias opacas se aíslan en varones con uretritis sintomática y en cultivos cervicouterinos a la mitad del ciclo menstrual. Los gonococos que forman colonias transparentes a menudo se aíslan en varones con infección uretral asintomática, en mujeres que están menstruando y en casos de gonorrea invasiva, como salpingitis e infección diseminada. La variación antigénica de las proteínas de superficie durante la infección permite al microorganismo esquivar la respuesta inmunitaria del hospedador.

Los gonococos atacan a las mucosas del aparato genitourinario, el ojo, el recto y la faringe, produciendo supuración aguda que puede desencadenar invasión de los tejidos; esto se acompaña de inflamación crónica y fibrosis. En los varones suele haber uretritis con pus amarillenta cremosa y disuria. El proceso puede extenderse hacia el epidídimo. A medida que cede la supuración en la infección no tratada se presenta fibrosis, lo cual a veces desencadena estenosis uretral. La infección uretral en los varones puede ser asintomática. En las mujeres, la infección primaria es en el conducto endocervical y se extiende hasta la uretra y la vagina, dando lugar a una secreción mucopurulenta. Luego puede avanzar a las trompas uterinas y causar salpingitis, fibrosis y obliteración de las trompas de Falopio. La esterilidad se presenta en 20% de las mujeres con salpingitis gonocócica. La cervicitis gonocócica crónica o la proctitis a menudo no producen síntomas.

La bacteriemia gonocócica causa lesiones de la piel (sobre todo pápulas hemorrágicas y pústulas) de las manos, antebrazos, pies y piernas así como tenosinovitis y artritis purulenta, por lo general de las rodillas, tobillos y muñecas. Los gonococos se pueden cultivar en sangre o líquido articular de sólo 30% de los pacientes con artritis gonocócica. La endocarditis gonocócica es una infección poco frecuente pero grave. Los gonococos a veces causan meningitis e infecciones oculares en los adultos; éstos causan manifestaciones similares a las de las infecciones por meningococos. La deficiencia de complemento a menudo se detecta en pacientes con bacteriemia gonocócica. En caso de bacteriemia, sobre todo si es recidivante, se deben realizar pruebas de actividad hemolítica total del complemento.

La oftalmía neonatal gonocócica, una infección ocular del recién nacido, se adquiere durante el paso a través de un conducto de parto infectado. La conjuntivitis inicial avanza rápidamente y, si no se trata, produce ceguera. Para evitar la oftalmía neonatal gonocócica, es obligatoria en Estados Unidos la instilación de gotas de tetraciclina, eritromicina o nitrato de plata en el saco conjuntival del recién nacido.

Los gonococos que producen infección circunscrita suelen ser sensibles al suero (destruidos por anticuerpo y complemento).

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

El pus y las secreciones se obtienen de la uretra, cuello uterino, recto, conjuntiva, faringe o del líquido sinovial para cultivo y frotis. En los pacientes con enfermedad sistémica es necesario el hemocultivo, pero es útil un sistema de cultivo especial, ya que los gonococos (y los meningococos) pueden ser susceptibles al sulfonato de polianetol presente en los medios de hemocultivo normales.

B. Frotis

Los frotis de exudado uretral o endocervical sujetos a tinción de Gram revelan muchos diplococos dentro de los piocitos, que permiten establecer un diagnóstico presuntivo. Los frotis teñidos del exudado uretral de los varones tienen una sensibilidad de casi 90% y especificidad de 99%. Los frotis teñidos de los exudados endocervicales tienen una sensibilidad de casi 50% y especificidad de cerca de 95% cuando los evalúa un microscopista experimentado. En los varones no son necesarias las pruebas diagnósticas adicionales de los exudados uretrales cuando la tinción es positiva, pero en las mujeres se deben realizar pruebas de amplificación de ácido nucleico (NAAT, *nucleic acid amplification test*) o cultivos. Los frotis teñidos de exudados de la conjuntiva también pueden ser diagnósticos, pero los de muestras de la faringe o del recto por lo general no son útiles.

C. Cultivo

Inmediatamente después de la recolección, el pus o el moco se colocan en medio selectivo enriquecido (p. ej., medio de Thayer-

Martin modificado) y se incuban en una atmósfera que contenga CO_2 a 5% (frasco con vela en absorbancia) a una temperatura de 37°C. Para evitar la proliferación excesiva de contaminantes, el medio selectivo contiene fármacos antimicrobianos (p. ej., vancomicina, 3 μg/ml; colistina, 7.5 μg/ml; anfotericina B, 1 μg/ml; y trimetoprim, 3 μg/ml). Si no es posible la incubación inmediata, se debe colocar la muestra en un sistema de cultivo de transporte que contenga CO_2. Luego de 48 h del cultivo, se pueden identificar con rapidez los microorganismos por su aparición en un frotis sujeto a tinción de Gram, por su producción de oxidasa y por la coaglutinación, la tinción inmunofluorescente u otras pruebas de laboratorio. Las bacterias subcultivadas se pueden determinar mediante la oxidación de carbohidratos específicos (cuadro 20-1). Las especies de cepas gonocócicas de otras zonas anatómicas que no sean el aparato genital o en los niños, se identifican utilizando dos pruebas confirmadoras diferentes debido a las repercusiones legales y sociales de un cultivo positivo.

D. Pruebas de amplificación de ácido nucleico

Se dispone de varios análisis de amplificación de ácido nucleico autorizados por la *Food and Drug Administration* para la detección directa de *N. gonorrhoeae* en muestras genitourinarias y son las pruebas preferidas de estas fuentes. En general, tales análisis tienen una sensibilidad y una especificidad excelentes en grupos de pacientes sintomáticos con gran prevalencia. Las ventajas comprenden una mejor detección, resultados más rápidos y la posibilidad de utilizar la orina como muestra. Las desventajas comprenden la especificidad insatisfactoria de algunos análisis por la reactividad cruzada con especies del género *Neisseria* no gonocócicas. No se recomiendan estos análisis para el diagnóstico de las infecciones gonocócicas extragenitales o de infecciones en los niños. No se recomiendan las NAAT como pruebas de curación pues el ácido nucleico puede persistir en las muestras de pacientes hasta por tres semanas después del tratamiento eficaz.

E. Diagnóstico serológico

El suero y el líquido genital contienen anticuerpos IgG e IgA contra las pilosidades gonocócicas, contra las proteínas de la membrana externa y el LPS. Parte de la IgM de los sueros humanos es bactericida para los gonococos *in vitro*.

En personas infectadas, es posible detectar pilosidades y proteínas de la membrana externa de los gonococos mediante pruebas de inmunoanálisis enzimático, radioinmunoanálisis y de ELISA (enzimoinmunoanálisis de adsorción). Sin embargo, estas pruebas no son útiles como ayuda diagnóstica por diversos motivos, a saber: la heterogeneidad antigénica del gonococo; la demora en la aparición de anticuerpos en la infección aguda; y una gran concentración de fondo de anticuerpos en la población sexualmente activa.

Inmunidad

Las infecciones gonocócicas repetidas son frecuentes. La inmunidad protectora contra la reinfección no parece presentarse como parte del proceso patológico, por la variedad antigénica de los gonococos. Aunque se pueden demostrar anticuerpos, incluso IgA e IgG en las superficies mucosas, son muy específicos de cepas o tienen escasa capacidad protectora.

Tratamiento

Desde el advenimiento y el uso generalizado de la penicilina, ha aumentado de manera gradual la resistencia de los gonococos a la penicilina, debido a la selección de mutantes cromosómicos, de manera que en la actualidad muchas cepas necesitan altas concentraciones de penicilina G para lograr la inhibición (MIC ≥2 μg/ml). *N. gonorrhoeae* productor de penicilinasa (PPNG, *penicillinase-producing N. gonorrhoeae*) también ha incrementado su prevalencia (véase antes). Es frecuente la resistencia a la tetraciclina mediada por cromosomas (MIC ≥2 μg/ml). También se presenta un alto grado de resistencia a la tetraciclina (MIC ≥32 μg/ml). Se ha observado resistencia a la espectinomicina así como a las fluoroquinolonas. De 1993 hasta 2006 se recomendaba el tratamiento con fluoroquinolonas en una sola dosis en las infecciones gonocócicas. A partir de 2006, las tasas de resistencia a las quinolonas en las cepas de gonococos han superado el 5% en los varones que tienen relaciones sexuales con varones y también en los heterosexuales. A causa de los problemas de resistencia antimicrobiana de *N. gonorrhoeae,* los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) recomiendan que se traten las infecciones genitales o rectales no complicadas con ceftriaxona (125 mg) por vía intramuscular en una sola dosis. El tratamiento adicional con azitromicina, 1 g por vía oral en una sola dosis o con 100 mg de doxiciclina por vía oral dos veces al día durante siete días se recomienda para la posible infección concomitante por clamidias. Se ha observado que la azitromicina es inocua y eficaz en mujeres embarazadas, pero la doxiciclina está contraindicada. Se recomiendan las modificaciones de estos tratamientos para otros tipos de infección por *N. gonorrhoeae.* Véase la página Web de CDC http://www.cdc.gov/std/treatment/2006/updated-regimens.htm.

Como es posible que se hayan contraído otras enfermedades de transmisión sexual al mismo tiempo que la gonorrea, se deben poner en práctica los pasos para su diagnóstico y tratamiento (véanse descripciones de clamidias, sífilis, etc.).

Epidemiología, prevención y control

La gonorrea tiene una distribución mundial. En Estados Unidos su incidencia aumentó notablemente desde 1955 hasta finales de la década de 1980, cuando la incidencia fue entre 400 y 500 casos por 100 000 de población. Entre 1975 y 1997, hubo una reducción del 74% en la tasa de infecciones gonocócicas notificadas. A partir de entonces, las tasas experimentaron una meseta en las infecciones gonocócicas hasta 2005 y 2006 cuando aumentaron de nuevo un poco hasta 120.9 casos por 100 000 de población (incremento del 5.5%).

La gonorrea se transmite exclusivamente mediante el contacto sexual, a menudo por mujeres y varones con infecciones asintomáticas. La infecciosidad del microorganismo es tal que la posibilidad de adquirir la infección por un solo contacto con una pareja sexual infectada es de 20 a 30% para los varones e incluso más elevada para las mujeres. La tasa de infección se puede reducir evitando parejas sexuales múltiples, erradicando con rapidez los gonococos en individuos infectados por medio del diagnóstico y tratamiento oportunos y el descubrimiento de casos y contactos a través de educación y detección en las poblaciones con alto riesgo. La profilaxis mecánica (condones) proporciona una protección parcial. La quimioprofilaxis tiene una utilidad limitada por el aumento de la resistencia del gonococo a los antibióticos.

La oftalmía neonatal gonocócica se previene mediante la aplicación local de ungüento oftálmico de eritromicina al 0.5% o ungüento de tetraciclina al 1% en la conjuntiva de los recién nacidos. Aunque la instilación de la solución de nitrato de plata también es eficaz y constituye el método tradicional para prevenir la oftalmía neonatal, es difícil de almacenar y produce irritación de la conjuntiva; su empleo en gran parte ha sido remplazado por el uso de ungüento de eritromicina o tetraciclina.

NEISSERIA MENINGITIDIS

Estructura antigénica

Se han identificado por lo menos 13 serogrupos de meningococos mediante la especificidad inmunológica de los polisacáridos capsulares. Los serogrupos más importantes relacionados con enfermedad en el ser humano son A, B, C, X, Y y W-135. El polisacárido del grupo A es un polímero de fosfato *N*-acetilmanosamina, y el del grupo C es un polímero de ácido *N*-acetil-*O*-acetilneuramínico. Se encuentran antígenos meningocócicos en la sangre y en el líquido cefalorraquídeo de los pacientes con enfermedad activa. Los brotes epidémicos y los casos esporádicos en el hemisferio occidental en el último decenio se han debido principalmente a grupos B, C, W-135 y Y; los brotes epidémicos en el sur de Finlandia y en Sao Paulo, Brasil, fueron causados por grupos A y C; los brotes epidémicos en Nueva Zelanda se deben a una cepa B específica y los de África principalmente al grupo A. El grupo C y, sobre todo el grupo A, se relacionan con enfermedad epidémica.

Las proteínas de la membrana externa de los meningococos se han dividido en clases con base en su peso molecular. Todas las cepas tienen proteínas de clase 1, clase 2 o clase 3; son análogas a las proteínas Por de los gonococos y a ellas se debe la especificidad del serotipo de los meningococos. Ayudan a formar poros en la pared de la célula del meningococo. Se han definido hasta 20 serotipos; los serotipos 2 y 15 se han relacionado con enfermedad epidémica. La proteína Opa (clase 5) es equiparable a la proteína Opa de los gonococos. Los meningococos contienen pilosidades, pero a diferencia de los gonococos, no forman tipos de colonia distintivos que indiquen bacterias con pilosidades. El LPS del meningococo produce muchos de los efectos tóxicos que se observan en la infección meningocócica. Se han observado las concentraciones más altas de endotoxina en la septicemia de pacientes con meningococemia (50 a 100 veces mayor que con otras infecciones por gramnegativos).

Patogenia, anatomía patológica y manifestaciones clínicas

Los seres humanos son los únicos hospedadores naturales en quienes los meningococos son patógenos. La nasofaringe es la vía de entrada. Allí los microorganismos se adhieren a las células epiteliales con la ayuda de las pilosidades; pueden formar parte de la flora transitoria sin producir síntomas. Desde la nasofaringe, los microorganismos llegan al torrente sanguíneo y producen bacteriemia; los síntomas son parecidos a los de una infección respiratoria alta. La meningococemia fulminante es más grave y se manifiesta por fiebre elevada y exantema hemorrágico; puede haber coagulación intravascular diseminada y colapso circulatorio (síndrome de Waterhouse-Friderichsen).

La meningitis es la complicación más frecuente de la meningococemia. Por lo general comienza en forma brusca con cefalea intensa, vómito y rigidez del cuello y evoluciona al estado de coma a las pocas horas.

Durante la meningococemia hay trombosis de diversos vasos sanguíneos pequeños en muchos órganos con infiltración perivascular y hemorragias petequiales. Puede haber miocarditis intersticial, artritis y lesiones de la piel. En la meningitis, las meninges presentan una inflamación aguda con trombosis de los vasos sanguíneos y exudación de leucocitos polimorfonucleares, de manera que la superficie del cerebro está cubierta por un exudado purulento espeso.

No se sabe qué es lo que transforma una infección asintomática de la nasofaringe en una meningococemia y una meningitis, pero ésta se puede evitar mediante anticuerpos séricos bactericidas que son específicos contra el serotipo infectante. La bacteriemia por *Neisseria* se favorece por la falta de anticuerpo bactericida (IgM e IgG), la inhibición de la acción bactericida sérica por un anticuerpo IgA bloqueante o una deficiencia de componentes del complemento (C5, C6, C7 o C8). Los meningococos se fagocitan con facilidad en la presencia de una opsonina específica.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras de la sangre se obtienen del cultivo y las muestras de líquido cefalorraquídeo se obtienen de frotis, cultivo y mediante la determinación química. Los cultivos de frotis de secreciones nasofaríngeas son adecuados para las evaluaciones de portador. Puede obtenerse material punteado de las petequias para prótesis y cultivo.

B. Frotis

Los frotis de sedimento de líquido cefalorraquídeo centrifugado o del aspirado petequial teñido con tinción de Gram a menudo muestran los gonococos característicos dentro de los leucocitos polimorfonucleares o extracelulares.

C. Cultivo

Los medios de cultivo sin sulfonato de polianetol sódico son útiles para cultivar muestras sanguíneas. Las muestras de líquido cefalorraquídeo se colocan en placas con agar "chocolate" y se incuban a una temperatura de 37°C en una atmósfera de CO_2 a 5% (frasco con vela). El líquido cefalorraquídeo recién retirado se puede incubar directamente a una temperatura de 37°C si no se dispone de inmediato de medios de cultivo con agar. Un medio de Thayer-Martin modificado con antibióticos (vancomicina, colistina, anfotericina) favorece la multiplicación de gonococos, inhibe a muchas otras bacterias y se utiliza para los cultivos nasofaríngeos. Las colonias presuntivas de los gonococos en medios sólidos, sobre todo en cultivo mixto, se pueden identificar mediante tinción de Gram y la prueba de la oxidasa. El líquido cefalorraquídeo y la sangre por lo general producen cultivos puros que se pueden identificar también mediante las reacciones oxidativas de carbohidratos (cuadro 20-1) y la aglutinación con suero de tipo específico o polivalente.

D. Diagnóstico serológico

Los anticuerpos contra los polisacáridos meningocócicos se pueden determinar mediante la aglutinación con látex o las pruebas de hemaglutinación o por su actividad bactericida. Se llevan a cabo estas pruebas sólo en laboratorios de referencia.

Inmunidad

La inmunidad contra la infección meningocócica se relaciona con la presencia de anticuerpos específicos, dependientes de complemento, bactericidas, en el suero. Estos anticuerpos se presentan después de infecciones asintomáticas con diferentes cepas o la inyección de antígenos y son específicos de grupo, específicos de tipo o ambos. Los antígenos inmunizantes para los grupos A, C, Y y W-135 son los polisacáridos capsulares. Para el grupo B, no se ha definido un antígeno específico adecuado que se pueda utilizar como una vacuna. Sin embargo, se han utilizado en muchas partes del mundo las vacunas del grupo B con mezclas de antígenos. En la actualidad existen dos tipos de vacunas contra los serogrupos A, C, Y y W-135 disponibles en Estados Unidos. Una vacuna tetravalente de polisacárido de la cual cada dosis consta de cuatro polisacáridos capsulares purificados de bacterias no es muy inmunógena en los niños menores de 18 meses, ni confiere inmunidad prolongada y no causa reducción persistente del estado de portador nasofaríngeo. Una vacuna conjugada tetravalente aprobada en 2005 está autorizada para utilizarse en personas de 11 a 55 años de edad. Contiene polisacárido capsular conjugado con toxoide diftérico. La ventaja de esta vacuna es que se desencadena una respuesta dependiente del linfocito T a la vacuna. Esto intensifica la respuesta primaria en los lactantes y reduce de manera notable el estado de portador asintomático. En la actualidad se recomienda la vacunación sistemática de adolescentes (11 a 12 años de edad) antes de la secundaria mediante el empleo de la vacuna conjugada. Asimismo, se recomienda la vacunación en personas de 11 a 55 años de edad que pertenecen a los siguientes grupos de riesgo: individuos con asplenia funcional o quirúrgica; personas con deficiencias de complemento; personas que viajan a zonas muy endémicas (p. ej., África subsahariana); “poblaciones cerradas” como los novatos universitarios que viven en dormitorios y los militares; poblaciones que experimentan un brote epidémico en la población; y para las personas que trabajan en laboratorios clínicos (microbiólogos).

Tratamiento

La penicilina G es el fármaco de elección para tratar la infección meningocócica. En personas alérgicas a las penicilinas se utiliza cloranfenicol o una cefalosporina de tercera generación como cefotaxima o ceftriaxona.

Epidemiología, prevención y control

La meningitis meningocócica se presenta en ondas epidémicas (p. ej., en campamentos militares, en peregrinos religiosos y en el África subsahariana; en Brasil, donde hubo más de 15 000 casos en 1974) y un pequeño número de casos esporádicos interepidémicos. Cinco a 30% de la población normal puede albergar meningococos (a menudo cepas no tipificables) en la nasofaringe durante los periodos interepidémicos. En las epidemias, la tasa de portador asciende a 70 a 80%. Una elevación del número de casos va precedida de un incremento en el número de portadores respiratorios. El tratamiento con penicilina oral no erradica el estado del portador. La rifampicina en dosis de 600 mg por vía oral dos veces al día durante dos días (o la ciprofloxacina en los adultos, 500 mg en una sola dosis) a menudo puede erradicar el estado de portador y servir de quimioprofilaxis para contactos domésticos y otros contactos cercanos. Desde la aparición de muchos meningococos resistentes a la sulfonamida, ya no es fiable la quimioprofilaxis con sulfonamidas.

Los casos químicos de meningitis constituyen sólo una fuente insignificante de infección y por tanto el aislamiento sólo tiene utilidad limitada. Es más importante la reducción de contactos personales en una población con una elevada tasa de portador. Esto se logra evitando el hacinamiento o la administración de vacunas como se mencionó antes. Como se ha comentado, estas vacunas en la actualidad se utilizan en algunos grupos (p. ej., los militares y en caso de epidemias en civiles).

OTROS GONOCOCOS

Neisseria lactamica muy pocas veces produce enfermedad pero es importante porque crece en medios selectivos (p. ej., medio de Thayer-Martin modificado) utilizados para los cultivos de gonococos y meningococos de muestras clínicas). *N. lactamica* se puede cultivar en la nasofaringe de 3 a 40% de las personas y muy a menudo se detecta en niños. A diferencia de los otros gonococos, fermenta lactosa.

Neisseria sicca, Neisseria subflava, Neisseria cinerea, Neisseria mucosa y *Neisseria flavescens* también son miembros de la microflora normal del aparato respiratorio, sobre todo de la nasofaringe, y muy pocas veces producen enfermedad. *N. cinerea* a veces se parece a *N. gonorrhoeae* por su morfología y reacción positiva para hidroxiprolilaminopeptidasa.

Moraxella catarrhalis anteriormente se denominaba *Branhamella catarrhalis* y antes de esto *Neisseria catarrhalis.* Es un miembro de la microflora normal en 40 a 50% de los niños de edad escolar sanos. *M. catarrhalis* produce bronquitis, neumonía, sinusitis, otitis media y conjuntivitis. También es causa importante de infección en pacientes inmunodeficientes. La mayor parte de las cepas de *M. catarrhalis* de infecciones clínicamente importantes producen lactamasa β. *M. catarrhalis* se puede diferenciar de las neisserias por su falta de fermentación de hidratos de carbono y por su producción de DNAasa. Produce butirato esterasa, que constituye la base de las pruebas fluorométricas rápidas para la identificación.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Los residentes de un grupo de pueblos pequeños en el África subsahariana rural padecieron una epidemia de meningitis. Diez por ciento de las personas fallecieron, la mayoría de ellas menores de 15 años de edad. El microorganismo que más probablemente causó esta epidemia fue

   (A) *Streptococcus agalactiae* (grupo B)
   (B) *Escherichia coli* K1 (de tipo capsular 1)

(C) *Haemophilus influenzae* serotipo b
(D) *Neisseria menigitidis* serogrupo A
(E) Virus del Nilo occidental

2. Un joven de 19 años de edad acudió a la clínica con una secreción uretral de 24 h de evolución. Se cultivó *Neisseria gonorrhoeae* de la muestra y se descubrió que tenía positividad para lactamasa β y que era resistente a altas concentraciones (≥32 μg/ml) de tetraciclina. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a estos factores de resistencia antimicrobiana es correcta?
   (A) La producción de lactamasa β y la gran resistencia a la tetraciclina son mediadas por genes presentes en los plásmidos
   (B) La producción de lactamasa β es mediada por un gen en el cromosoma bacteriano, en tanto que la gran resistencia a la tetraciclina es mediada por un gen presente en un plásmido
   (C) La producción de lactamasa β es mediada por un gen presente en un plásmido con una gran resistencia a la tetraciclina mediada por un gen presente en el cromosoma bacteriano
   (D) La producción de lactamasa β y la alta resistencia a la tetraciclina son mediadas por genes presentes en el cromosoma bacteriano
3. Un niño de seis años de edad presenta fiebre y cefalea. Es llevado a la sala de urgencias donde se observa que tiene rigidez de la nuca, lo que indica una irritación meníngea. Se lleva a cabo una punción lumbar y en el cultivo del líquido cefalorraquídeo se identifica *Neisseria meningitidis* del serogrupo b. ¿Cuál de las siguientes medidas debe evaluarse para los miembros de su familia (que viven en el mismo domicilio)?
   (A) No se necesita profilaxis ni otras medidas
   (B) Se debe administrar vacuna de pilina de *Neisseria meningitidis*
   (C) Se debe administrar vacuna capsular de polisacárido de serogrupo B de *Neisseria meningitidis*
   (D) Debe recibir profilaxis con rifampicina
   (E) Se debe administrar profilaxis con sulfonamida
4. Una mujer de 18 años de edad que refiere relaciones sexuales sin protección con una nueva pareja dos semanas antes, presenta fiebre y dolor abdominal en la fosa iliaca izquierda con la aparición de su periodo menstrual. En el tacto rectal en la sala de urgencias hay hipersensibilidad dolorosa bilateral cuando se palpa el útero. Se siente una masa de 2 a 3 cm de diámetro en el lado izquierdo, indicativa de un absceso tuboovárico. Después, se cultiva *Neisseria gonorrhoeae* del conducto endocervical. Una secuela frecuente de esta infección es
   (A) Carcinoma cervicouterino
   (B) Estenosis uretral
   (C) Tumores fibroides uterinos
   (D) Esterilidad
   (E) Fístula vaginal-rectal
5. Un oficial de policía de 38 años de edad acude al servicio de urgencias con la molestia principal expresada de la manera siguiente: "Ya me dio otra vez esta infección gonocócica diseminada". Está en lo correcto. Los cultivos de su uretra y líquido articular revelan *Neisseria gonorrhoeae.* Previamente había tenido cinco episodios de infección gonocócica diseminada. En el paciente se debe valorar
   (A) Deficiencia selectiva de IgA
   (B) Defecto quimiotáctico de leucocitos polimorfonucleares
   (C) Deficiencia de un componente del complemento de acción tardía C5, C6, C7 o C8
   (D) Falta de actividad de adenosina desaminasa linfocítica
   (E) Deficiencia de mieloperoxidasa
6. ¿Cuál de las siguientes personas debe recibir inmunización sistemática con la vacuna meningocócica conjugada?
   (A) Un adolescente joven sano que ingresa en la secundaria
   (B) Un niño sano que ingresa en el jardín de niños
   (C) Un hombre de 60 años de edad con diabetes dependiente de insulina
   (D) Un técnico de 40 años de edad sano que trabaja en un laboratorio de investigación sobre el cáncer
   (E) Una mujer de 65 años de edad con arteriopatía coronaria
7. Una mujer de 25 años de edad sexualmente activa presenta una secreción vaginal purulenta con disuria siete días después de tener relaciones sexuales sin protección con una nueva pareja. De las opciones que se exponen a continuación, ¿cuál es el método diagnóstico más sensible para determinar el posible microorganismo causal?
   (A) Tinción de Gram
   (B) Inmunoanálisis enzimático
   (C) Cultivo bacteriano en medios selectivos
   (D) Prueba de amplificación de ácido nucleico
   (E) Diagnóstico serológico
8. ¿Cuál es el tratamiento recomendado actualmente para la uretritis gonocócica en los varones que tienen relaciones sexuales con varones en Estados Unidos?
   (A) Una sola dosis de una fluoroquinolona oral
   (B) Siete días de doxiciclina oral
   (C) Ceftriaxona administrada por vía intramuscular en una sola dosis
   (D) Espectinomicina intramuscular en una sola dosis
   (E) Siete días de amoxicilina oral
9. ¿A cuál de los siguientes componentes celulares producidos por *Neisseria gonorrhoeae* se debe la adherencia a las células hospedadoras?
   (A) Lipooligosacárido
   (B) Pilosidades (fimbrias)
   (C) Proteasa de IgA1
   (D) Proteína porina de la membrana externa
   (E) Proteína fijadora de hierro
10. Un hombre de 60 años con neumopatía crónica grave presenta fiebre, tos productiva con esputo purulento y agravamiento de la hipoxemia. Se obtiene una muestra de esputo y se remite al laboratorio. El examen microscópico de una tinción de Gram revela múltiples leucocitos polimorfonucleares y predominantemente diplococos gramnegativos intracelulares y extracelulares. El microorganismo se multiplica bien en SBA al 5% y agar chocolate y tiene positividad para butirato esterasa. ¿Cuál es el microorganismo que más posiblemente está causando esta enfermedad en el hombre?
   (A) *Neisseria gonorrhoeae*
   (B) *Neisseria lactamica*
   (C) *Moraxella catarrhalis*
   (D) *Haemophilus influenzae*
   (E) *Neisseria meningitidis*

Respuestas

1. D	4. D	7. D	10. C
2. A	5. C	8. C	
3. D	6. A	9. B	

BIBLIOGRAFÍA

Apicella MA: *Neisseria meningitidis.* In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone Elsevier, 2010.

Janda WM, Gaydos CA: Neisseria. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (editors). ASM Press, 2007.

Marrazzo JM: *Neisseria gonorrhoeae.* In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone Elsevier, 2010.

CAPÍTULO

21

Infecciones causadas por bacterias anaerobias

Las infecciones de importancia médica causadas por bacterias anaerobias son frecuentes. Suelen ser polimicrobianas, es decir, se detectan bacterias anaerobias en infecciones mixtas con otros anaerobios, anaerobios facultativos y aerobios (véase el glosario de definiciones). Las bacterias anaerobias se detectan en todo el cuerpo humano (en la piel, las mucosas y en altas concentraciones en la boca y el tubo digestivo), como parte de la microflora normal (cap. 10). Se presenta infección cuando los anaerobios y otras bacterias de la microflora normal contaminan zonas del organismo que normalmente son estériles.

Varias enfermedades importantes son causadas por especies anaerobias del género *Clostridium* del ambiente o de la microflora normal; a saber: botulismo, tétanos, gangrena gaseosa, intoxicación alimentaria y colitis seudomembranosa. Estas enfermedades se describen en los capítulos 9 y 11 y más adelante en este capítulo en forma breve.

GLOSARIO

Anaerobios facultativos: Las bacterias que se pueden multiplicar en forma oxidativa, utilizando oxígeno como el aceptor terminal de electrón, o bien por vía anaerobia, utilizando reacciones de fermentación para obtener energía. Tales bacterias son microorganismos patógenos frecuentes. Las especies del género *Streptococcus* y las Enterobacteriaceae (p. ej., *Escherichia coli*) son algunos de los múltiples anaerobios facultativos que producen enfermedad. A menudo las bacterias que son anaerobios facultativos se denominan "aerobios".

Bacterias aerobias: Las que necesitan oxígeno como un aceptor terminal de electrón y no crecen en condiciones anaeróbicas (es decir, ante la falta de O_2). Algunas especies de géneros *Micrococcus* y *Nocardia asteroides* son aerobios estrictos (es decir, deben tener oxígeno para poder sobrevivir).

Bacterias anaerobias: Las que no utilizan oxígeno para su crecimiento y metabolismo, sino que obtienen su energía de reacciones de fermentación. Una definición funcional de los anaerobios es que necesitan una tensión de oxígeno reducida para su crecimiento y no se desarrollan en la superficie de un medio sólido en CO_2 a 10% en aire ambiental. Las especies de los géneros *Bacteroides* y *Clostridium* son ejemplos de anaerobios.

Bacterias capnófilas: Las que necesitan bióxido de carbono para crecer.

FISIOLOGÍA Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO PARA LOS ANAEROBIOS

Las bacterias anaerobias no crecen en presencia de oxígeno y son destruidas por oxígeno o radicales de oxígeno tóxicos (véase adelante). El pH y el potencial de oxidación y reducción (E_h) también son importantes para establecer las condiciones que favorecen el crecimiento de los anaerobios. Los anaerobios se multiplican a un E_h bajo o negativo.

Los aerobios y los anaerobios facultativos a menudo cuentan con los sistemas metabólicos enumerados más adelante, en tanto por lo común las bacterias anaerobias no lo hacen.

1) Sistemas de citocromo para el metabolismo de O_2.

2) Superóxido dismutasa (SOD, *superoxide dismutase*), que cataliza la siguiente reacción:

$$O^-_2 + O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

3) Catalasa, que cataliza la siguiente reacción:

$$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2 \text{ (burbujas de gas)}$$

Las bacterias anaerobias no cuentan con los sistemas del citocromo para el metabolismo del oxígeno. Los anaerobios menos difíciles de aislar pueden tener bajas concentraciones de SOD y pueden o no tener catalasa. La mayor parte de las bacterias del grupo *Bacteroides fragilis* tienen pequeñas cantidades de catalasa y SOD. Al parecer cuentan con múltiples mecanismos para la toxicidad por el oxígeno. Supuestamente, cuando los anaerobios tienen SOD o catalasa (o ambas), pueden contrarrestar los efectos negativos de los radicales de oxígeno y el peróxido de hidrógeno y por tanto tolerar oxígeno. Los **anaerobios estrictos** por lo general carecen de superóxido dismutasa y catalasa y son susceptibles a los efectos mortales del oxígeno; tales anaerobios estrictos a menudo se aíslan de las infecciones humanas y casi todas las infecciones anaeróbicas en los seres humanos se deben a "anaerobios moderadamente estrictos".

La capacidad de los anaerobios para tolerar el oxígeno o crecer en su presencia varía de una especie a otra. Asimismo, hay una variación entre las cepas dentro de una determinada especie (p. ej., una cepa de *Prevotella melaninogenica* puede crecer a una concentración de O_2 del 0.1% pero no del 1%; otra puede crecer a una concentración del 2% pero no del 4%). Asimismo, ante la falta de oxígeno, algunas bacterias anaerobias crecen a un E_h más positivo.

Los **anaerobios facultativos** crecen bien o mejor bajo condiciones anaerobias que en situaciones aerobias. Las bacterias que son anaerobios facultativos a menudo se denominan "aerobios". Cuando un anaerobio facultativo como *E. coli* está presente en el lugar de una infección (p. ej., un absceso abdominal), puede consumir rápidamente todo el oxígeno disponible y cambiar al metabolismo anaeróbico, produciendo un medio anaeróbico y un E_h bajo y por tanto permitir que las bacterias anaerobias que están presentes crezcan y produzcan enfermedad.

BACTERIAS ANAEROBIAS DETECTADAS EN INFECCIONES EN SERES HUMANOS

Desde el decenio de 1990, la clasificación taxonómica de las bacterias anaerobias se modificó de manera notable por la aplicación de la secuenciación molecular y las técnicas de hibridación de DNA-DNA. La nomenclatura que se utiliza en este capítulo se refiere a los géneros de anaerobios que suelen detectarse en las infecciones humanas y a determinadas especies reconocidas como patógenas importantes del ser humano. En el cuadro 21-1 se enumeran los anaerobios que suelen aislarse en las infecciones humanas.

Anaerobios gramnegativos

A. Bacilos gramnegativos

1. *Bacteroides*. Las especies del género *Bacteroides* son anaerobios muy importantes que producen infección en seres humanos. Constituyen un enorme grupo de bacilos gramnegativos resistentes a la bilis, no formadores de esporas y delgados que pueden tener el aspecto de cocobacilos. Muchas especies previamente incluidas en el género *Bacteroides* se han vuelto a clasificar en el género *Prevotella* o el género *Porphyromonas.* Las especies que se mantuvieron en el género *Bacteroides* son miembros del grupo de *B. fragilis* (casi 20 especies).

Las especies del género *Bacteroides* son residentes normales del intestino y de otros lugares. Las heces normales contienen 10^{11} microorganismos de la especie *B. fragilis* por gramo (en comparación con 10^8/g para los anaerobios facultativos). Otros miembros del grupo *B. fragilis* que suelen aislarse son *B. ovatus, B. distasonis, B. vulgatus* y *B. thetaiotaomicron.* Las especies del género *Bacteroides* muy a menudo intervienen en las infecciones intraabdominales, por lo general en circunstancias de alteraciones de la pared intestinal, como ocurre en caso de perforaciones relacionadas con intervenciones quirúrgicas o traumatismo, apendicitis aguda y diverticulitis. Estas infecciones a menudo son polimicrobianas; también se encuentran cocos anaerobios, especies del género *Clostridium* y *Eubacterium.* Tanto *B. fragilis* como *B. thetaiotaomicron* intervienen en las infecciones intrapélvicas graves como enfermedad inflamatoria pélvica y abscesos ováricos. Las especies del grupo *B. fragilis* son las que se aíslan con mayor frecuencia en algunas series de casos de bacteriemia por anaerobios; estos microorganismos conllevan una mortalidad muy alta. Como se describe más adelante en el capítulo, *B. fragilis* puede elaborar múltiples factores de virulencia que contribuyen a su patogenicidad y mortalidad en el hospedador.

CUADRO 21-1 Bacterias anaerobias de importancia clínica

Género	Sitio anatómico
Bacilos (bastones)	
Gramnegativos	
Grupo de *Bacteroides fragilis*	Colon Boca
Prevotella melaninogenica	Boca, colon, sistema genitourinario
Fusobacterium	
Grampositivos	Boca
Actinomyces	Vagina
Lactobacillus	Piel
Propionibacterium	Boca, colon
Eubacterium, Bifidobacterium y Arachnia	Colon[a]
Clostridium	
Cocos (esferas)	
Grampositivos	
Peptoniphilus	Colon, boca, piel, aparato genitourinario
Peptostreptococcus	Colon, boca, piel, aparato genitourinario
Peptococcus	
Finegoldia	
Gramnegativos	
Veillonella	Boca, colon

[a]También se detecta en el suelo.

2. *Prevotella*. Las especies del género *Prevotella* son bacilos gramnegativos y pueden tener el aspecto de bacilos delgados o cocobacilos. Se aíslan con mucha frecuencia las especies *P. melaninogenica, P. bivia* y *P. disiens. P. melaninogénica* y especies similares se detectan en infecciones de las vías respiratorias altas. *P. bivia* y *P. disiens* se encuentran en el aparato genital femenino. Las especies del género *Prevotella* se aíslan en abscesos cerebrales y pulmonares, en empiemas y en la enfermedad inflamatoria pélvica así como en los abscesos tuboováricos.

En estas infecciones, las prevotellas suelen acompañar a otros microorganismos anaerobios que son parte de la microflora normal, sobre todo peptoestreptococos, bacilos grampositivos anaerobios y especies del género *Fusobacterium,* así como anaerobios facultativos grampositivos y gramnegativos que constituyen parte de la microflora normal.

3. *Porphyromonas*. Asimismo las especies del género *Porphyromonas* son bacilos gramnegativos que forman parte de la microflora normal de la cavidad bucal y también se encuentran en otros lugares anatómicos. Las especies del género *Porphyromonas* pueden cultivarse en infecciones dentales periapicales y gingivales y, más a menudo, en infecciones de mama, axila, perianales y genitales masculinos.

4. Fusobacterias. Éstas son alrededor de 13 especies de *Fusobacterium,* pero la mayor parte de las infecciones en seres humanos son causadas por *Fusobacterium necrophorum* y *Fusobacterium nucleatum.* Las dos especies tienen una morfología y hábitat diferentes, lo mismo que la gama de infecciones que producen. *F. necrophorum* es un bacilo muy polimorfo, largo, con extremos redondos y tiende a presentarse en formas aberrantes.

No es un componente de la cavidad bucal sana. *F. necrophorum* es muy virulento y produce infecciones graves de órganos de la cabeza y el cuello que pueden evolucionar a una infección complicada llamada enfermedad de Lemierre. Esta última se caracteriza por tromboflebitis séptica aguda de la vena yugular que evoluciona a septicemia con abscesos metastásicos de los pulmones, el mediastino, el espacio pleural y el hígado. La enfermedad de Lemierre es muy frecuente en niños mayores y en adultos jóvenes y a menudo se presenta relacionada con mononucleosis infecciosa. *F. necrophorum* también se observa en infecciones intraabdominales polimicrobianas. *F. nucleatum* es un bacilo delgado con extremos convergentes (forma de aguja) y es un componente importante de la microflora gingival así como de los sistemas genital, digestivo y respiratorio alto. Como tal, a menudo se aísla en diversas infecciones clínicas como son infecciones pleuropulmonares, infecciones obstétricas, notablemente corioamnionitis, y a veces abscesos cerebrales que complican la enfermedad periodontal. Pocas veces produce bacteriemia en pacientes neutropénicos.

B. Cocos gramnegativos

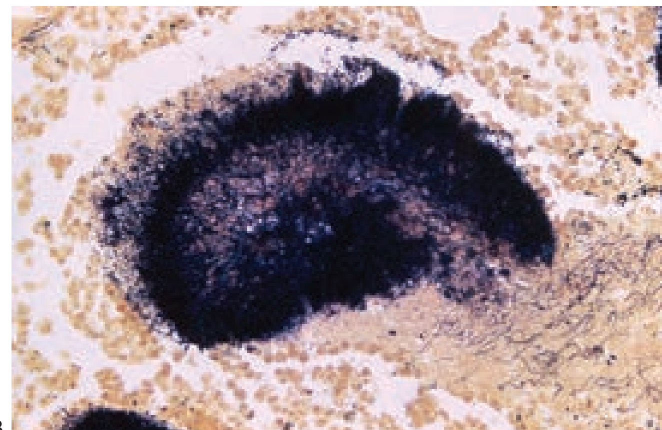
Las especies del género *Veillonella* constituyen un grupo de cocos pequeños, anaerobios, gramnegativos que son parte de la microflora normal de la boca, la nasofaringe y probablemente el intestino. Antes se les conocía con diversos nombres, pero ahora se conocen en conjunto como veillonellas. Aunque a veces se aíslan en infecciones anaeróbicas polimicrobianas, pocas veces son la única causa de una infección.

Anaerobios grampositivos

A. Bacilos grampositivos

1. *Actinomyces.* El grupo del género *Actinomyces* comprende varias especies que causan actinomicosis, de las cuales *Actinomyces israelii* y *Actinomyces gerencseriae* son los que se aíslan con mayor frecuencia. Varias especies nuevas recién descritas que no se relacionan con la actinomicosis se han asociado a infecciones de la ingle, la región urogenital, la mama y las axilas, así como infecciones posoperatorias de la mandíbula, ojos, cabeza y cuello. También se han implicado algunas especies en casos de endocarditis, sobre todo en toxicómanos. Estas especies recién descritas son aerotolerantes y forman pequeñas colonias no descritas que probablemente a menudo se pasan por alto como contaminantes. En la tinción de Gram, tienen una longitud muy variable: pueden ser filamentos cortos y de forma de bastón o largos, delgados en forma de abalorio. Pueden ser ramificados o no ramificados. Puesto que a menudo crecen con lentitud, puede ser necesaria la incubación prolongada del cultivo antes de confirmar el diagnóstico clínico de laboratorio de la actinomicosis. Algunas cepas producen colonias en agar que son parecidas a los dientes molares. Algunas especies de *Actinomyces* toleran oxígeno (aerotolerantes) y se multiplican en la presencia de aire; estas cepas pueden confundirse con especies de *Corynebacterium* (difteroides; cap. 12). La actinomicosis es una infección purulenta y granulomatosa crónica que produce lesiones piógenas con fístulas interconectadas que contienen gránulos que constan de microcolonias de las bacterias embebidas en elementos hísticos (fig. 21-1A-C). La infección es iniciada por traumatismo que introduce estas microbacterias endógenas





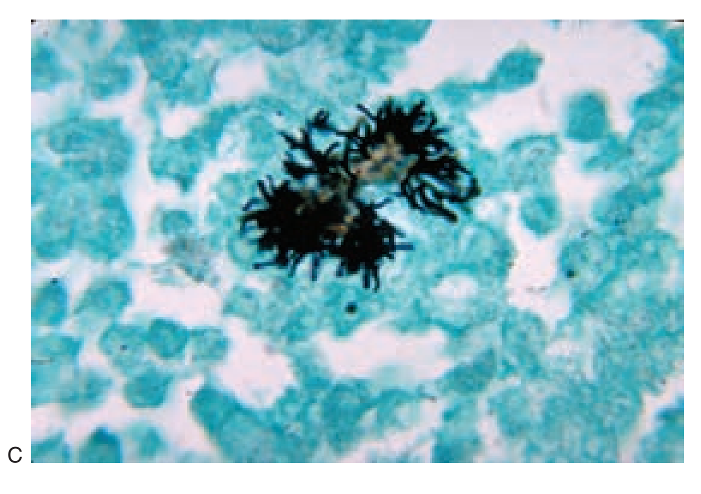


FIGURA 21-1 Especies del género *Actinomyces.* **A:** Colonia de especies de *Actinomyces* después de 72 h de cultivo en agar de infusión cerebro y corazón, que por lo general produce colonias de casi 2 mm de diámetro; a menudo se les denomina colonias "de dientes molares". (Cortesía de CDC Public Health Image Library.) **B:** Gránulo de *Actinomyces* en tejido con tinción de Brown y Breen. Aumento original × 400. Los filamentos de los bacilos ramificados son visibles en la periferia del gránulo. Estos gránulos suelen denominarse "gránulos de sulfuro" debido a su color amarillo burdo no teñido. (Cortesía de CDC Public Health Image Library.) **C:** *Actinomyces naeslundii* en un absceso cerebral teñido con tinción con plata de metilamina. Son visibles los bacilos ramificados. Aumento original × 1 000. (Cortesía de CDC Public Health Image Library, L. Georg.)

en la mucosa. Los microorganismos crecen en un nicho anaeróbico, provocan una respuesta inflamatoria mixta y se diseminan con la formación de fístulas, que contienen los gránulos y que pueden drenar hacia la superficie. La infección produce edema y puede diseminarse hacia los órganos circunvecinos, incluidos los huesos.

Con base en la zona de afectación, las tres formas frecuentes son actinomicosis cervicofacial, torácica y abdominal. La infección cervicofacial se manifiesta como un proceso eritematoso y edematoso de la zona de la mandíbula (conocida como "mandíbula abultada"). Con el avance la masa se vuelve fluctuante y produce fístulas purulentas. La enfermedad se propaga al tejido contiguo, al hueso y los ganglios linfáticos de la cabeza y el cuello. Los síntomas de la actinomicosis torácica son parecidos a los de una infección pulmonar subaguda: fiebre leve, tos y esputo purulento. Tarde o temprano se destruye el tejido pulmonar, las fístulas experimentan erupción a través de la pared torácica y puede ocurrir invasión de las costillas. La actinomicosis abdominal a menudo se presenta tras una apendicitis o una úlcera perforada. En la cavidad peritoneal, los hallazgos patológicos son los mismos, pero puede resultar afectado cualquiera de varios órganos. La actinomicosis genital es poco común en las mujeres y se debe a la colonización de un dispositivo intrauterino con invasión subsiguiente.

Se puede establecer el diagnóstico mediante el análisis del pus de las fístulas purulentas, el esputo o los especímenes de tejido para detectar la presencia de gránulos de sulfuro. Los gránulos son duros, lobulados y constan de tejido y filamentos bacterianos, que tienen forma de bastón en la periferia. Se debe efectuar cultivo anaeróbico de las muestras en los medios apropiados. Para el tratamiento es necesaria la administración prolongada de una penicilina (6 a 12 meses). La clindamicina o la eritromicina son eficaces en pacientes alérgicos a la penicilina. Pueden necesitarse la escisión quirúrgica y el drenaje.

2. *Lactobacillus.* Los *Lactobacillus* son miembros importantes de la microflora normal de la vagina. El producto de ácido láctico de su metabolismo ayuda a mantener el pH bajo del sistema genital normal de la mujer adulta. Pocas veces produce enfermedad.

3. *Propionibacterium.* Las especies de *Propionibacterium* son miembros de la microflora normal de la piel, cavidad bucal, colon, conjuntivas y el conducto auditivo externo. Sus productos metabólicos comprenden ácido propiónico, del cual deriva el nombre del género. En la tinción de Gram son muy polimorfos y muestran extremos curvos, en palillo de tambor o punteados de formas largas con una tinción irregular en forma de abalorio y a veces formas cocoides o esféricas. *Propionibacterium acnes,* a menudo considerado un microorganismo patógeno oportunista, produce la enfermedad acné vulgar y se relaciona con diversos trastornos inflamatorios. Produce acné al producir lipasas que desdoblan ácidos libres de los lípidos de la piel. Estos ácidos grasos pueden producir inflamación del tejido que contribuye a la formación del acné. Además, *P. acnes* suele ser una causa de infecciones posoperatorias de heridas quirúrgicas sobre todo las que implican la inserción de dispositivos, por ejemplo, infecciones de prótesis articulares, en particular del hombro, infecciones de derivaciones del sistema nervioso central, osteomielitis, endocarditis y endoftalmitis. Puesto que es parte de la microflora cutánea normal, *P. acnes* a veces contamina los cultivos de sangre o líquido cefalorraquídeo que se obtienen al penetrar la piel. Por tanto es importante (pero a menudo difícil) distinguir un cultivo contaminado de uno que es positivo y que indica infección.

4. *Eubacterium, Eggerthella, Bifidobacterium* y *Arachnia.* Estos cuatro géneros están constituidos por bacilos anaerobios, polimorfos, grampositivos. Hay varias especies. Se detectan en infecciones mixtas relacionadas con la microflora bucofaríngea o intestinal.

5. *Clostridium.* Los clostridios son bacilos grampositivos, formadores de esporas (cap. 11). Hay más de 200 especies. Las principales enfermedades relacionadas con estas bacterias son causadas por exotoxinas (cap. 9).

Las esporas de *Clostridium tetani,* que produce el tétanos, están presentes en todo el medio ambiente. Germinan en tejido desvitalizado a una E_h de +10 mV (la del tejido normal es +120 mV). Una vez que crecen, los microorganismos elaboran la toxina tetanoespasmina, una neurotoxina potente. La infección circunscrita suele ser clínicamente no importante. La toxina se disemina a lo largo de los nervios hasta el sistema nervioso central, donde se une a gangliósidos, suprime la liberación de neurotransmisores inhibidores y genera espasmos musculares prolongados. Mientras que el compromiso respiratorio se presenta como resultado de la obstrucción de vías respiratorias altas o la afectación del diafragma, la disfunción autonómica ha surgido como la causa principal de la defunción de los pacientes. Desde luego, el traumatismo grave puede predisponer al desarrollo del tétanos; sin embargo, más de 50% de los casos de tétanos se presentan después de lesiones leves. El tétanos es totalmente evitable: se provoca inmunidad activa con el toxoide tetánico (toxina tetánica formalinizada). El toxoide tetánico es parte del DTaP que se administra de manera sistemática durante la infancia (difteria, tétanos, tos ferina acelular); los adultos deben recibir refuerzos cada 10 años.

Clostridium botulinum produce botulismo (caps. 9 y 11). *C. botulinum* tiene una distribución en todo el medio ambiente. Las esporas se abren camino hacia los alimentos conservados o enlatados con bajas concentraciones de oxígeno, E_h baja y nutrientes que respaldan su crecimiento. Los microorganismos germinan y elaboran las toxinas al crecer y experimentar lisis. Las neurotoxinas botulínicas son las toxinas más potentes que se conocen pero pueden neutralizarse con anticuerpos específicos. Las toxinas son termolábiles, de manera que los alimentos que se calientan en forma adecuada no transmiten botulismo. La toxina botulínica formada de antemano se ingiere y se absorbe. Actúa sobre el sistema nervioso periférico inhibiendo la liberación de acetilcolina en las sinapsis colinérgicas y produciendo parálisis. Una vez que la toxina se fija, el proceso es irreversible. Los síntomas se relacionan con la acción anticolinérgica y consisten en disfagia, sequedad de la boca, diplopía y debilidad o imposibilidad para respirar. Se debe tratar el botulismo con antitoxina. El botulismo del lactante ocurre tras la ingestión de esporas, la germinación de las mismas y la producción de toxina *in vivo*; la miel es un vehículo frecuente para la diseminación de las esporas en los lactantes.

Clostridium perfringens produce gangrena gaseosa. Existen por lo menos 12 antígenos solubles diferentes, muchos de los cuales son toxinas. Todos los tipos de *C. perfringens* producen la toxina alfa, una exotoxina hemolítica necrosante que es

una lecitinasa. Las otras toxinas tienen actividades variables, como necrosis de los tejidos y hemólisis. *C. perfringens* está presente en todo el medio ambiente. Ocurre **gangrena gaseosa** cuando una herida de tejidos blandos es contaminada por *C. perfringens,* como ocurre en caso de traumatismo, aborto séptico y heridas de guerra. La bacteriemia relacionada con *C. perfringens* puede ser rápidamente mortal. Las formas más leves de la enfermedad también se presentan. Una vez que se inicia la infección, los microorganismos elaboran toxinas necrosantes; el CO_2 y el H_2 se acumulan en los tejidos y son clínicamente detectables como gas (p. ej., gangrena gaseosa). Otros procesos infecciosos producen gas en los tejidos y se deben distinguir de la gangrena gaseosa por clostridios. Estas infecciones comprenden mionecrosis estreptocócica por anaerobios, mionecrosis sinérgica por anaerobios no clostridios, gangrena vascular infecciosa y mionecrosis por *Aeromonas hydrophila.* Se presenta edema y se altera la circulación, favoreciendo la diseminación de la infección anaeróbica. El tratamiento consiste en la eliminación quirúrgica de la infección y la administración de penicilina G.

C. perfringens es una causa frecuente de intoxicación alimentaria (pero menos que *Staphylococcus aureus*). La enfermedad es causada por una enterotoxina producida y liberada durante la esporulación. El periodo de incubación para el dolor abdominal, la náusea y la diarrea aguda es de 8 a 24 h.

Clostridium difficile produce colitis seudomembranosa. Es parte de la microflora digestiva normal en 2 a 10% de los seres humanos. Los microorganismos son relativamente resistentes a la mayor parte de los antibióticos que se suelen utilizar. Acompañando al uso de antibiótico después del mismo, la microflora digestiva normal se suprime y prolifera *C. difficile,* produciendo toxina citopática y enterotoxina. Los síntomas de la enfermedad varían desde la diarrea sola hasta la diarrea intensa y la necrosis de la mucosa con la acumulación de células inflamatorias y fibrina, lo que forma la seudomembrana. El diagnóstico se establece al demostrar citotoxina neutralizable en las heces a través de su efecto citopático en el cultivo celular o mediante la detección de enterotoxina con inmunoanálisis. Muchos laboratorios que tienen los recursos para el diagnóstico molecular han creado o están utilizando métodos comerciales de amplificación de ácido nucleico en tiempo real para la detección génica de *C. difficile* en vez de los ensayos fenotípicos de toxinas que son menos sensibles o más laboriosos.

A veces se detectan otras especies del género *Clostridium* en las infecciones polimicrobianas, sobre todo en las relacionadas con la contaminación del tejido normal por el contenido del colon.

B. Cocos grampositivos

El grupo de los cocos grampositivos anaerobios ha experimentado una notable expansión taxonómica. Muchas especies de *Peptostreptococcus* fueron reasignadas a nuevos géneros como *Anaerococcus, Finegoldia* y *Peptoniphilus.* Las especies que contienen estos géneros, al igual que *Peptococcus niger,* son miembros importantes de la microflora normal de la piel, la cavidad oral, las vías respiratorias altas, el tubo digestivo y el aparato genitourinario de la mujer. Los miembros de este grupo son microorganismos patógenos oportunistas y muy a menudo se detectan en infecciones mixtas, sobre todo de muestras que no se obtienen en forma meticulosa. Sin embargo, estos microorganismos se han relacionado con infecciones graves como abscesos cerebrales, infecciones pleuropulmonares, fascitis necrosante y otras infecciones profundas de la piel y los tejidos blandos, infecciones intraabdominales e infecciones del aparato genital femenino.

PATOGENIA DE LAS INFECCIONES ANAERÓBICAS

Las infecciones causadas por anaerobios suelen deberse a combinaciones de bacterias que funcionan en patogenicidad sinérgica. Aunque los estudios sobre la patogenia de las infecciones anaeróbicas a menudo se han enfocado a una sola especie, es importante reconocer que las infecciones por anaerobios muy a menudo se deben a varias especies de anaerobios que actúan en conjunto para producir infección.

B. fragilis es un microorganismo patógeno muy importante entre los anaerobios que forman parte de la microflora normal. La patogenia de la infección por anaerobios se ha estudiado muy ampliamente con *B. fragilis* utilizando un modelo de rata de infección intraabdominal, que en muchos aspectos se parece a la enfermedad de los seres humanos. Se produce una secuencia característica después que se coloca a través de una aguja contenido del colon (que incluye *B. fragilis* y un anaerobio facultativo como *E. coli)*, cápsula de gelatina y otro medio en la cavidad abdominal de las ratas. Un alto porcentaje de los animales del estudio fallecen por septicemia causada por el anaerobio facultativo. Sin embargo, si los animales son tratados inicialmente con gentamicina, un fármaco eficaz contra el anaerobio facultativo pero no contra *Bacteroides,* se evita tanto la septicemia inicial como la aparición subsiguiente de abscesos abdominales.

Los polisacáridos capsulares de los microorganismos *Bacteroides* son factores de virulencia importantes. Una característica singular de las infecciones por *B. fragilis* es la capacidad del microorganismo para desencadenar la formación de absceso como el único microorganismo infectante. Cuando se inyectan en el abdomen de la rata, los polisacáridos purificados de *B. fragilis* producen la formación de abscesos, en tanto que los de otras bacterias (p. ej., *Streptococcus pneumoniae* y *E. coli*) no lo producen. El mecanismo por el cual la cápsula de *B. fragilis* provoca la formación de abscesos no se comprende bien.

Las especies del género *Bacteroides* tienen lipopolisacáridos (endotoxinas; cap. 9) pero carecen de las estructuras de lipopolisacárido con actividad endotóxica (que incluyen ácido β-hidroximirístico). Los lipopolisacáridos de *B. fragilis* son mucho menos tóxicos que los de otras bacterias gramnegativas. Por consiguiente, la infección causada por *Bacteroides* no produce directamente los signos clínicos de septicemia (p. ej., fiebre y choque) tan importantes en las infecciones debidas a otras bacterias gramnegativas. Cuando estos signos clínicos aparecen en la infección por *Bacteroides* son resultado de la respuesta inmunitaria inflamatoria a la infección.

B. fragilis elabora diversas enzimas importantes en las enfermedades. Además de proteasas y neuraminidasas, se producen dos citolisinas que tienen una acción conjunta para producir hemólisis de eritrocitos. En la mayor parte de las cepas que se aíslan de hemocultivos se detecta una enterotoxina capaz

de producir diarrea y cuyo gen está contenido en una isla de patogenicidad.

B. fragilis produce una superóxido dismutasa y puede sobrevivir en la presencia de oxígeno por algunos días. Cuando un anaerobio facultativo como *E. coli* está presente en la zona de la infección, puede consumir todo el oxígeno disponible y por tanto producir un ambiente en el cual pueden crecer *Bacteroides* y otros anaerobios (véase antes).

De la misma manera, *F. necrophorum* posee importantes factores de virulencia que le permiten causar el síndrome de Lemierre y otras infecciones invasivas graves. Uno de estos factores es una leucotoxina que posiblemente produce la necrosis observada en estas infecciones. Otros factores son una hemaglutinina, una hemolisina y lipopolisacárido (endotoxina). Además, *F. necrophorum* es capaz de causar agregación de plaquetas. Aún no se ha dilucidado la interacción patógena exacta, si es que existe, entre tales factores en la patogenia de las infecciones en seres humanos.

Muchas bacterias anaerobias producen heparinasa, colagenasa y otras enzimas que lesionan o destruyen tejidos. Es posible que las enzimas desempeñen una función en la patogenia de las infecciones por anaerobios mixtos, aunque los experimentos de laboratorio no han podido definir la participación específica.

INMUNIDAD EN LAS INFECCIONES POR ANAEROBIOS

Es relativamente poco lo que se sabe sobre la inmunidad en las infecciones por anaerobios. La información más completa se ha obtenido de estudios de modelos animales de infecciones por *B. fragilis*.

Muchos microorganismos anaerobios (entre ellos especies de *Bacteroides, Propionibacterium* y *Fusobacterium)* producen factores quimiotácticos independientes del suero que atraen a los leucocitos polimorfonucleares. La cápsula de *B. fragilis* es antifagocítica al igual que inhibidora de la acción bactericida mediada por complemento. En condiciones óptimas los *Bacteroides* son fagocitados por los leucocitos polimorfonucleares cuando los microorganismos son opsonizados por anticuerpo y por complemento. Tanto los animales como el ser humano producen anticuerpos contra antígenos de *Bacteroides*, incluido el material de la cápsula. La transferencia pasiva de anticuerpos de un animal inmune a un animal no inmune protege contra la bacteriemia por *Bacteroides,* pero no evita la formación de abscesos abdominales; en el modelo de infección de la rata, es una respuesta inmunitaria dependiente del linfocito T que impide la formación de absceso. La transferencia pasiva de las células inmunitarias del bazo o un factor independiente de la célula de bajo peso molecular evita la formación de absceso abdominal en el modelo de la rata.

LA NATURALEZA POLIMICROBIANA DE LAS INFECCIONES POR ANAEROBIOS

La mayor parte de las infecciones por anaerobios se relacionan con contaminación del tejido por la microflora normal de la mucosa de la cavidad bucal, la faringe, el tubo digestivo o el aparato genital. Suelen aislarse múltiples especies (cinco o seis especies o más cuando se utilizan condiciones de cultivo normales), incluidos tanto anaerobios como anaerobios facultativos. Las infecciones bucofaríngeas, pleuropulmonares, abdominales y del aparato reproductor femenino relacionadas con la contaminación por la microflora normal de la mucosa tienen una distribución relativamente similar de anaerobios y anaerobios facultativos como microorganismos causales: alrededor de 25% tienen sólo anaerobios; casi 25% sólo anaerobios facultativos; y 50% anaerobios y anaerobios facultativos. También puede haber bacterias aerobias, pero los aerobios estrictos son mucho menos frecuentes que los anaerobios y los anaerobios facultativos. En el cuadro 21-2 se muestran las bacterias anaerobias y las infecciones representativas que se relacionan con ellas.

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES POR ANAEROBIOS

Los signos clínicos que indican una posible infección por microorganismos anaerobios son los siguientes:

1. Secreción fétida (debida a productos derivados de ácidos grasos de cadena corta del metabolismo anaeróbico).
2. Infección cercana a una superficie mucosa (los microorganismos anaerobios son parte de la microflora normal).
3. Gas en los tejidos (producción de CO_2 y H_2).
4. Cultivos negativos para aerobios.

CUADRO 21-2 Bacterias anaerobias e infecciones representativas relacionadas

Abscesos cerebrales
Peptoestreptococos, *Fusobacterium nucleatum* y otros
Infecciones bucofaríngeas
Anaerobios bucofaríngeos; especies de los géneros *Actinomyces, Prevotella melaninogenica* y especies del género *Fusobacterium*
Infecciones pleuropulmonares
Peptoestreptococos; especies de *Fusobacterium; Prevotella melaninogenica, Bacteroides fragilis* en 20-25%; otras
Infecciones intraabdominales
Absceso pulmonar, anaerobios mixtos en 40-90%; microorganismos facultativos Abscesos abdominales; *Bacteroides fragilis;* otra microflora digestiva
Infecciones genitales femeninas
Abscesos vulgares: peptoestreptococos y otros Abscesos tuboováricos y pélvicos: *Prevotella bivia* y *Prevotella disiens;* peptoestreptococos; otros
Piel, tejidos blandos e infecciones óseas
Microflora anaerobia mixta; *Propionibacterium acnes*
Bacteriemia
Bacteroides fragilis; peptoestreptococos; propionibacteria; *Fusobacteria; Clostridium;* otros
Endocarditis
Bacteroides fragilis, Actinomyces

El diagnóstico de la infección por anaerobios se establece mediante el cultivo anaeróbico de muestras obtenidas y transportadas en forma apropiada (cap. 47). Los anaerobios crecen muy fácilmente en medios complejos como base de agar soya con tripticasa, agar sangre de Schaedler, agar brucela, agar infusión cerebro y corazón y otros, cada uno con bastantes complementos (p. ej., hemina, vitamina K_1, sangre). Un medio complejo selectivo que contiene kanamicina se utiliza en forma paralela. La kanamicina (al igual que todos los aminoglucósidos) no inhibe el crecimiento de anaerobios estrictos; por consiguiente, les permite proliferar sin ser superados por los anaerobios facultativos de crecimiento rápido. Los cultivos se incuban a una temperatura de 35 a 37°C en una atmósfera anaeróbica que contiene CO_2.

La morfología de la colonia, la pigmentación y la fluorescencia son útiles para identificar a los anaerobios. Las actividades bioquímicas y la producción de ácidos grasos de cadena corta se determinan mediante la cromatografía con gas líquido para la confirmación del diagnóstico por el laboratorio.

TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES POR ANAEROBIOS

El tratamiento de las infecciones por anaerobios mixtos consiste en el drenaje quirúrgico (en la mayor parte de los casos) más el tratamiento antimicrobiano.

El grupo de microorganismos de *B. fragilis* que se aísla en infecciones abdominales y otras siempre produce lactamasa β, al igual que muchas cepas de las especies *P. bivia* y *P. disiens* detectadas en las infecciones genitales en las mujeres. Por suerte estas lactamasas β son inhibidas por combinaciones de inhibidores de lactam β y lactamasa β como ampicilina-sulbactam. El tratamiento con antimicrobianos (diferentes a la penicilina G) es necesario para tratar a las infecciones por estos microorganismos. Por lo menos dos tercios de las cepas de *P. melaninogenica* de las infecciones pulmonares y bucofaríngeas también producen lactamasa β.

Los fármacos más activos para tratar las infecciones por anaerobios son clindamicina y metronidazol aunque la resistencia a la clindamicina en el grupo de *B. fragilis* se ha incrementado en el último decenio. Se prefiere la clindamicina para las infecciones supradiafragmáticas. Al parecer, escasos anaerobios son resistentes a la clindamicina, y pocos, si acaso, son resistentes al metronidazol. Los fármacos alternativos comprenden cefoxitina, cefotetán, algunas de las otras cefalosporinas más nuevas y piperacilina, pero estos fármacos no son tan activos como la clindamicina y el metronidazol. Los antibióticos carbapenémicos ertapenem, imipenem, meropenem y doripenem tienen una actividad eficaz contra muchos anaerobios y la resistencia todavía es infrecuente. La tigeciclina, un compuesto que está autorizado por la FDA para el tratamiento de la piel y los tejidos blandos, y las infecciones intraabdominales, tiene una actividad *in vitro* satisfactoria contra diversos anaerobios como el grupo de *B. fragilis.* La penicilina G sigue siendo el fármaco de elección para tratar las infecciones por anaerobios que no son causadas por especies *Bacteroides* y *Prevotella* productoras de lactamasa β.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un hombre de 55 años de edad acude a su médico por presentar tos intensa y producción de esputo purulento. Su aliento tiene un olor fétido muy desagradable. Las radiografías torácicas muestran una gran cantidad de líquido en el espacio pleural izquierdo y una cavidad pulmonar de 5 cm con un nivel hidroaéreo. Se inserta una aguja a través de la pared torácica y se retira algo del líquido del espacio pleural; es espeso, de color gris amarillento y maloliente. ¿Cuál de los siguientes microorganismos o series de microorganismos muy posiblemente se cultivará del líquido pleural?
   (A) *Bacteroides fragilis, Escherichia coli* y enterococos
   (B) *Prevotella bivia,* peptoestreptococos y *Staphylococcus epidermidis*
   (C) *Prevotella melaninogenica,* especies del género *Fusobacterium* y estreptococos viridans
   (D) Especies del género *Propionibacterium,* peptoestreptococos y *Staphylococcus aureus*
   (E) *Streptococcus pneumoniae*
2. Un joven de 23 años presenta un absceso perirrectal. Éste se trata con drenaje quirúrgico. Se obtiene cultivo del espécimen y muestra bacterias anaerobias. Los datos clave que indican infección por bacterias anaerobias son
   (A) Cultivo para aerobios negativo
   (B) Gas en los tejidos
   (C) Cercanía a la superficie mucosa
   (D) Secreción fétida
   (E) Todo lo anterior
3. Un hombre de 63 años de edad con diabetes se inyecta insulina de manera sistemática en los músculos de su muslo izquierdo. Recientemente presentó dolor intenso con edema de su muslo izquierdo. En la exploración éste se halla edematoso y con eritema. Se observa crepitación en la palpación, lo que indica gas en los tejidos. También se puede ver gas en los planos fasciales en la radiografía de la pierna. La gangrena gaseosa debida a *Clostridium perfringens* se considera un diagnóstico probable. ¿Qué otras infecciones se deben tomar en cuenta?
   (A) Mionecrosis por estreptococos anaerobios
   (B) Mionecrosis por anaerobios no clostridios sinérgicos
   (C) Gangrena vascular infectada
   (D) Mionecrosis por *Aeromonas hydrophila*
   (E) Todo lo anterior
4. Un joven de 18 años de edad presenta fiebre con dolor en la fosa iliaca derecha. Después de la valoración inicial es llevado al quirófano. Durante la intervención quirúrgica, se identifica un apéndice roto con un absceso. Se cultiva *Bacteroides fragilis* del líquido del absceso. ¿Cuál de los siguientes factores favorece la formación del absceso por *Bacteroides fragilis?*
   (A) Lipopolisacárido
   (B) Cápsula
   (C) Superóxido dismutasa
   (D) Pilosidades
   (E) Toxina leucocidina
5. Las infecciones causadas por *Bacteroides* se pueden tratar con todos los siguientes antibióticos, *excepto:*
   (A) Ampicilina-sulbactam
   (B) Clindamicina
   (C) Metronidazol
   (D) Penicilina
   (E) Cefoxitina
6. Un joven de 17 años de edad estudiante de secundaria presenta una mononucleosis infecciosa. Unas dos semanas más tarde presenta fiebre notablemente más elevada, agravamiento de una faringitis, imposibilidad para deglutir y dolor intenso en el cuello y el tórax. Al ingresarse presenta signos de septicemia y dificultad respiratoria. ¿Cuál es el microorganismo que más probablemente produce esta complicación?
   (A) *Fusobacterium necrophorum*
   (B) *Bacteroides ovatus*

(C) *Prevotella melaninogenica*
(D) *Clostridium tetani*
(E) *Actinomyces israelii*

7. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a *Lactobacilli* es correcta?
(A) Son cocos grampositivos anaerobios
(B) Se detectan más a menudo en la cavidad oral
(C) El principal producto del metabolismo es ácido propiónico
(D) Pocas veces produce enfermedad en el ser humano
(E) Forman endosporas

8. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones describe mejor la patogenia de *Clostridium botulinum*?
(A) Elabora una toxina que inhibe la liberación de acetilcolina en las sinapsis colinérgicas
(B) Elabora una exotoxina que es una lecitinasa que causa necrosis de los tejidos
(C) Produce una cápsula de polisacárido que inhibe la fagocitosis y contribuye a la invasión del sistema nervioso central
(D) Elabora una toxina que suprime la liberación de neurotransmisores inhibidores
(E) Produce una leucotoxina que desencadena la formación de absceso

9. El fármaco de elección para tratar las infecciones causadas por *Actinomyces* es
(A) Tigeciclina
(B) Cefoxitina
(C) Metronidazol
(D) Imipenem
(E) Penicilina

10. Las infecciones que suelen ser causadas por *Clostridium perfringens* comprenden todas las siguientes, *excepto:*
(A) Gangrena gaseosa
(B) Mandíbula abultada
(C) Intoxicación alimentaria
(D) Bacteriemia

Respuestas

1. C	4 B	7. D	10. B
2. E	5. D	8. A	
3. E	6. A	9. E	

BIBLIOGRAFÍA

Citron DM, Poxton IR, Baron EJ: *Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella, Fusobacterium*, and other anaerobic gram-negative rods. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Cohen-Poradosu R, Kasper DL: Anaerobic infections: general concepts. In *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Finegold SM, Song Y: Anaerobic cocci. In *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Garrett WS, Onderdonk AB: *Bacteroides, Prevotella, Porphyromonas*, and *Fusobacterium* species (and other medically important gram-negative bacilli). In *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Hall V: *Actinomyces*—Gathering evidence of human colonization and infection. Anaerobe 2008;14:1.

Johnson EA, Summanen P, Finegold SM: *Clostridium*. In *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Kononen E: Anaerobic gram-positive nonsporulating bacilli. In *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Onderdonk AB, Garrett WS: Gas gangrene and other *Clostridium*-associated diseases. In *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Reddy P, Bleck TP: *Clostridium botulinum* (botulism). In *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Reddy P, Bleck TP: *Clostridium tetani* (tetanus). In *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Riordan T: Human infection with *Fusobacterium necrophorum* (Necrobacillosis) with a focus on Lemierre's syndrome. Clin Microbiol Rev 2007;20:622.

Song Y, Finegold SM: *Peptostreptococcus, Finegoldia, Anaerococcus, Peptoniphilus, Veillonella*, and other anaerobic cocci. In *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Wexler HM. *Bacteroides*: the good, the bad and the nitty-gritty. Clin Microbiol Rev 2007;20:593.

CAPÍTULO

22

Legionelas, bartonelas y bacterias patógenas poco comunes

LEGIONELLA PNEUMOPHILA Y OTRAS LEGIONELAS

Un brote de neumonía en personas que acudían a la convención de la Legión Estadounidense en Filadelfia, a la que se dio amplia difusión, fue el punto de partida de investigaciones que definieron la participación de *Legionella pneumophila* y las legionelas en él. Desde 1947 se hizo el diagnóstico retrospectivo de otros brotes de trastornos respiratorios causados por microorganismos similares. Existen docenas de especies de *Legionella,* algunas con múltiples serotipos. *L. pneumophila* es la causa principal de enfermedad en seres humanos; *Legionella micdadei* y otras especies a veces ocasionan neumonía. Las demás legionelas rara vez se aíslan de enfermos, o se les identifica sólo en el entorno.

Morfología e identificación

L. pneumophila es la bacteria prototípica del grupo. Las legionelas de importancia primaria en medicina se incluyen en el cuadro 22-1.

A. Microorganismos típicos

Las legionelas son bacterias gramnegativas aeróbicas trofoselectivas (se les cultiva con dificultad en medios especiales) de 0.5 a 1 μm de ancho y 2 a 50 μm de largo (fig. 22-1). Casi no captan el colorante de Gram y no se les identifica en muestras clínicas teñidas por él. Es necesario realizar extensiones teñidas con el método de Gram si se sospecha la proliferación de *Legionella* en medios de agar. Como contracolorante habrá que usar fucsina básica (0.1%), porque apenas si tiñe dicha bacteria la safranina.

B. Cultivo

Las legionelas pueden proliferar en medios complejos como el agar con extracto de levadura y carbón vegetal (amortiguado), con cetoglutarato α y hierro (BCYE, *buffered charcoal yeast extract*; con pH de 6.9 con temperatura de 35°C y 90% de humedad). Es posible añadir antibióticos para así convertirlo en medio selectivo para *Legionella.* El carbón vegetal actúa como desintoxicante. Para cultivos de sangre cabe usar el medio BCYE bifásico. Las legionelas proliferan lentamente y por lo regular las colonias son visibles sólo después de tres días de incubación. Aquellas que aparecen después de una noche de incubación no pertenecen a esta especie. Las colonias son redondas o planas con bordes precisos; su color varía desde incoloro hasta rosa o azul iridiscente y son translúcidas o moteadas. Es frecuente que la morfología de las colonias varíe y éstas puedan perder rápidamente su color y sus puntos característicos. Otros géneros de bacterias proliferan en el medio BCYE y es importante diferenciarlos de *Legionella* por medio de tinción de Gram y otras técnicas.

Por lo común se necesita que transcurran dos semanas o más para que las legionelas proliferen en cultivos de sangre. Es posible identificar las colonias en la superficie de agar del medio bifásico.

C. Características de crecimiento

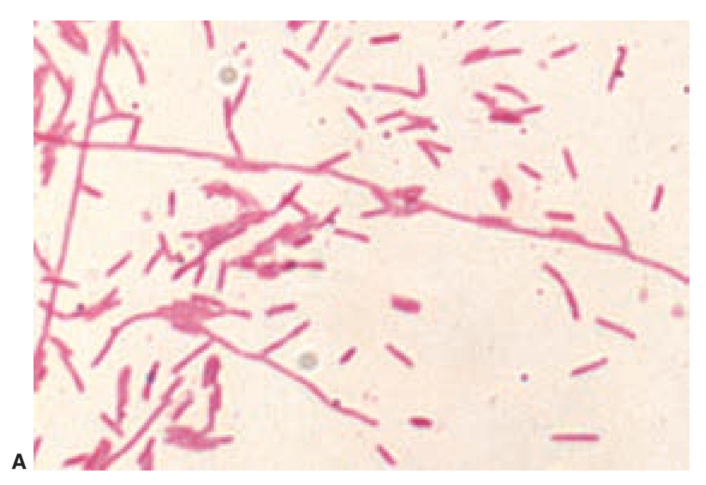
Las legionelas son catalasa positivas. *L. pneumophila* es oxidasa positiva; la actividad de oxidasa es variable en otras legionelas. *L. pneumophila,* pero no las demás legionelas, hidroliza el ácido hipúrico. Muchos microorganismos de este tipo producen gelatinasa y lactamasa β; *L. micdadei* no produce ninguna de ambas enzimas.

Antígenos y productos celulares

Según expertos, la especificidad antigénica de *L. pneumophila* depende de estructuras antigénicas complejas. Se han identificado como mínimo 16 serogrupos de *L. pneumophila;* el sero-

CUADRO 22-1 Especies de *Legionella* de importancia médica primaria

Especie	Neumonía	Fiebre de Pontiac
Legionella pneumophila	+	Serogrupos 1 y 6
Legionella micdadei	+	
Legionella gormanii	+	
Legionella dumoffii	+	
Legionella bozemanii	+	
Legionella longbeachae	+	
Legionella wadsworthii	+	
Legionella jordanis	+	
Legionella feeleii	+	+
Legionella oakridgensis	+	



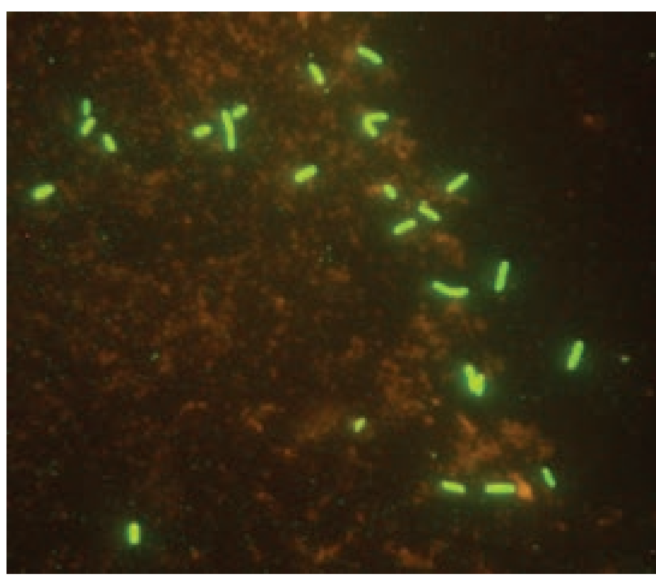


FIGURA 22-1 **A:** *Legionella pneumophila* teñida con método de Gram: los microorganismos captan débilmente la fucsina y casi no lo hacen con la safranina. Amplificación original × 1 000. (Por cortesía de La Colección de Imágenes de Salud Pública de CDC.) **B:** Tinción por anticuerpos fluorescentes directos de *Legionella* de especies mixtas, y para ello se usan anticuerpos contra antígenos del género Legionela conjugados con fluoresceína. Amplificación original × 1 000. (Por cortesía de R. Nadarajah.)

grupo 1 produjo en 1976 un brote de legionelosis y constituye el serogrupo más común aislado de humanos. Por la técnica de identificación serológica de grupo es imposible identificar especies de *Legionella* porque muestran antigenicidad cruzada entre diferentes especies. En ocasiones también muestran estas características bacteroides, bordetela y algunas seudomonas, con antisuero contra *L. pneumophila.*

Las legionelas producen de manera característica ácidos grasos de cadena ramificada de 14 a 17 carbonos. Cabe recurrir a la cromatografía de gas-líquido para definir e identificar las especies de legionelas.

Las legionelas sintetizan proteasas, fosfatasa, lipasa, DNasa y RNasa. La principal proteína en la secreción, que es una metaloproteasa, posee actividad hemolítica y citotóxica; sin embargo, no se ha demostrado que tal proteína sea un factor de virulencia necesario.

Histopatología y patogenia

Las legionelas están distribuidas extensamente en entornos húmedos y cálidos; se les localiza en lagos, corrientes y otros cúmulos de agua. Se multiplican en la forma de amebas de vida libre y coexisten con ellas en biopelículas (véase la sección Epidemiología y control más adelante). La infección de seres humanos debilitados o imnunodeficientes suele presentarse después de la inhalación de bacterias de aerosoles generados de sistemas contaminados de aire acondicionado, cabezales de regaderas y fuentes similares. *L. pneumophila* suele ocasionar una infiltración lobular, segmentaria o irregular de pulmones. En el procedimiento histológico la imagen es similar a la producida por otros patógenos bacterianos. La neumonía purulenta aguda que afecta los alvéolos aparece con un exudado intraalveolar denso de macrófagos, polimorfonucleares, eritrocitos y material proteináceo. Muchas de las legionelas en las lesiones están dentro de células fagocíticas. Se observa escasa infiltración intersticial o incluso no hay inflamación de los bronquíolos y zonas altas de vías respiratorias.

Los datos sobre la patogenia de la infección por *L. pneumophila* por lo común han provenido de estudios de células aisladas de seres humanos y también de animales susceptibles como los cobayos.

L. pneumophila penetra y prolifera fácilmente en macrófagos y monocitos de alvéolos de seres humanos y no es destruida de modo eficaz por los polimorfonucleares. *In vitro*, cuando hay anticuerpos séricos pero no inmunitarios, se deposita en la fracción C3 del complemento en la superficie bacteriana y la bacteria se fija a los receptores CR1 y CR3 de complemento en la superficie del fagocito. La penetración en la célula es un fenómeno fagocítico en que interviene la formación de un seudópodo alrededor de la bacteria. Cuando se cuenta con anticuerpos inmunitarios, la penetración mencionada se hace por la fagocitosis más típica mediada por la fracción Fc. En el interior de la célula las bacterias individuales están dentro de vacuolas fagosómicas, pero los mecanismos de defensa de los macrófagos no penetran y por ello se detienen en ese punto. En vez de lo mencionado, las vacuolas comentadas no se fusionan con los gránulos lisosómicos. Disminuye la fase metabólica oxidativa repentina e intensa del fagocito. Los fagosomas que contienen *L. pneumophila* muestran acidificación menor que los que contienen otras partículas ingeridas. Se acumulan ribosomas, mitocondrias y pequeñas vesículas alrededor de las vacuolas que contienen *L. pneumophila.* Las bacterias se multiplican en el interior de las vacuolas hasta que alcanzan gran número, destruyen las células y son liberadas, y así se produce la infección de otros macrófagos. Para la proliferación intracelular de las bacterias es esencial la presencia de hierro (transferrina-hierro), pero no se conocen en detalle otros factores que son importantes para procesos como proliferación, destrucción celular y daño tisular.

Manifestaciones clínicas

La infección asintomática es frecuente en todos los grupos de edad, como lo demuestran los títulos altos de anticuerpos específicos. La incidencia de enfermedad clínicamente significativa alcanza su máximo en varones mayores de 55 años. Entre los factores que conllevan riesgo alto están tabaquismo, bronquitis crónica y enfisema, corticoterapia y empleo de otros inmunodepresores (como en el caso del trasplante renal), quimioterapia

antineoplásica y diabetes mellitus. Cuando surge neumonía en los pacientes con dichos factores de riesgo, hay que buscar *L. pneumophila* como su causa.

La infección puede ocasionar un cuadro febril indefinido breve, o un trastorno grave de evolución rápida que incluye fiebre alta, escalofríos, malestar general, tos no productiva, hipoxia, diarrea y delirio. En las radiografías de tórax se observan zonas de consolidación frecuentemente multilobulares irregulares. También se observan a veces leucocitosis, hiponatremia, hematuria (e incluso insuficiencia renal), o anormalidades de la función hepática. Durante algunos brotes, la cifra de mortalidad ha llegado a 10%. El diagnóstico se basa en el cuadro clínico y de excluir otras causas de neumonía por medio de datos de estudios de laboratorio. Demostrar la presencia de *Legionella* en nuestras clínicas permite confirmar rápidamente el diagnóstico específico. Este último también se puede confirmar por cultivo de *Legionella* o por métodos serológicos, pero los resultados de tales métodos pueden tardar más allá de la fecha en que debe comenzar la terapia específica.

L. pneumophila también produce una enfermedad llamada "fiebre de Pontiac" porque el síndrome clínico en cuestión surgió en un brote en Michigan. Tal trastorno se caracteriza por fiebre y escalofríos, mialgias, malestar general y cefaleas que evolucionan en un lapso de 6 a 12 h. También se observan mareos, fotofobia, rigidez de cuello y confusión. Las manifestaciones respiratorias son menos intensas en la fiebre de Pontiac que en la legionelosis, e incluyen tos leve y faringitis.

Estudios diagnósticos de laboratorio

A. Muestras

En las infecciones de seres humanos es posible identificar los microorganismos en material de lavado bronquial, líquido pleural, y muestras de biopsia de pulmón o sangre. Aislar *Legionella* del esputo es más difícil a causa del predominio de las bacterias de la flora normal. Rara vez se identifica *Legionella* de otros sitios anatómicos.

B. Extensiones

No es posible identificar legionelas en extensiones de muestras clínicas teñidas con técnica de Gram. Se puede corroborar el diagnóstico con el estudio de anticuerpos fluorescentes directos en muestras, pero es poca su sensibilidad, en comparación con los cultivos. En muestras de tejido a veces se usan tinciones argénticas.

C. Cultivos

Las muestras se cultivan en agar BCYE (véanse párrafos anteriores). Los microorganismos cultivados se identifican con rapidez por tinción por inmunofluorescencia. Cabe usar agar BCYE que contiene antibióticos, para el cultivo de muestras contaminadas.

D. Pruebas específicas

En ocasiones se demuestran por métodos inmunológicos antígenos de *Legionella* en la orina del enfermo. La técnica para detectar antígeno en dicho líquido es específica para el serotipo 1 de *L. pneumophila.* De este modo, el método anterior (antígeno en orina) no es útil para el diagnóstico de 20 a 70% de las infecciones por especies de *Legionella*, lo cual depende del sitio geográfico; es mejor no depender de ese único método para descartar infecciones por *Legionella.*

E. Serología

Los niveles de anticuerpos contra legionelas aumentan lentamente durante la enfermedad. Los métodos serológicos poseen sensibilidad de 60 a 80% y especificidad de 95 a 99%. Las técnicas de este tipo son muy útiles para el diagnóstico retrospectivo de brotes de infecciones por *Legionella*.

Inmunidad

Los sujetos infectados sintetizan anticuerpos contra *Legionella*, pero el punto máximo de la reacción en que surgen tal vez no se produzca antes de cuatro a ocho semanas de ocurrida la infección. No se ha definido en la inmunidad protectora en seres humanos la participación de las respuestas mediadas por anticuerpos y por células. Los animales estimulados con dosis subletales de *L. pneumophila* virulenta, *L. pneumophila* avirulenta o de una vacuna proteínica secretora mayor, son inmunes a las dosis letales ulteriores de *L. pneumophila.* Se producen las respuestas inmunitarias humoral y mediada por células; esta última es importante como forma de inmunidad protectora, ante la infección intracelular y la proliferación de *Legionella*.

Tratamiento

L. pneumophila es un parásito intracelular de macrófagos, otras células fagocíticas y probablemente otras células más del ser humano. Otras especies de microorganismos también pueden proliferar de modo importante dentro de macrófagos de humanos; por esa razón, para que los antimicrobianos sean útiles para combatir las infecciones por este agente deben penetrar en los fagocitos, y en el interior poseer actividad biológica. Los macrólidos (eritromicina, azitromicina, telitromicina), las quinolonas (ciprofloxacina y levofloxacina) y las tetraciclinas (doxiciclina) son eficaces. No son eficaces los lactámicos β, los monobactámicos y los aminoglucósidos; además, muchas legionelas elaboran lactamasa β. A veces se necesita el tratamiento durante tres semanas, según la situación clínica.

Epidemiología y control

El hábitat natural de las legionelas lo constituyen lagos, corrientes, ríos y especialmente masas de aguas termales y tierra. Las legionelas proliferan mejor en agua tibia y caliente en presencia de amebas y bacterias acuáticas. Proliferan en el interior de amebas en una forma muy similar a como lo hacen dentro de los macrófagos pulmonares. Al surgir situaciones ambientales difíciles y enquistarse las amebas, éstas y las legionelas sobreviven hasta que aparecen de nuevo mejores condiciones de proliferación y permiten desenquistamiento. Las legionelas, las amebas y otros microorganismos existen en biopelículas; las primeras asumen un estado sésil, sobreviven a métodos de tratamiento hídrico y cuando proliferan penetran en pequeñas cantidades en los sistemas de distribución de agua.

Las torres de enfriamiento y los condensadores de evaporación pueden estar muy contaminados por *L. pneumophila.* Es posible que los aerosoles que aparecen en el equipo de ambos tipos propaguen los microorganismos a personas susceptibles. De forma semejante, se observan vínculos entre la contaminación de sistemas hídricos residenciales y la legionelosis adquirida en la comunidad, y entre la contaminación de los sistemas hídricos de hospitales y la infección nosocomial por *L. pneumophila.* La

hipercloración y el sobrecalentamiento de agua permiten controlar la multiplicación de legionelas en el agua y en los sistemas de acondicionamiento de aire.

BARTONELLA

Las tres especies médicamente importantes del género *Bartonella* son *B. bacilliformis*, que causa la fiebre de Oroya y la verruga peruana; *B. quintana*, la causa de la fiebre quintana de la Primera Guerra Mundial y algunos casos de angiomatosis bacilar, y *B. henselae,* que origina la linforreticulosis benigna y se ha vinculado con la angiomatosis bacilar. Los cuadros en cuestión poseen muchas características en común. Se conoce un conjunto adicional pequeño de especies y subespecies de *Bartonella* que rara vez han causado enfermedades de seres humanos, y también un grupo mucho mayor que son propias de animales, y que posiblemente no se han transmitido a personas. Las especies de *Bartonella* son bacilos gramnegativos pleomórficos, de proliferación lenta, y difíciles de aislar en el laboratorio. Se les identifica en los tejidos infectados teñidos con la técnica de impregnación argéntica de Warthin-Starry.

Bartonella bacilliformis

Se conocen dos fases de la infección por *B. bacilliformis*: la inicial o **fiebre de Oroya**, es una anemia infecciosa grave, y la fase eruptiva, o **verruga peruana**, suele comenzar dos a ocho semanas más tarde, aunque puede hacerlo sin que aparezca la fiebre mencionada.

La fiebre de Oroya se caracteriza por la aparición y evolución rápida de anemia intensa por destrucción de eritrocitos, esplenomegalia y hepatomegalia y hemorragia en el interior de ganglios linfáticos. Masas de bartonelas llenan el citoplasma de células que revisten los vasos sanguíneos y al presentar turgencia las células endoteliales puede haber oclusión y trombosis vasculares. La cifra de mortalidad de la fiebre de Oroya no tratada se acerca a 40%. El diagnóstico se hace al examinar extensiones de sangre teñidas y cultivos del mismo material en un medio semisólido.

La verruga peruana consiste en lesiones cutáneas vasculares que aparecen en brotes sucesivos; dura en promedio un año y ocasiona escasa reacción general y no culmina en la muerte. En los granulomas se identifican bartonelas y también en los cultivos de sangre, pero no hay anemia.

B. bacilliformis produce una proteína que origina deformidad (indentación) de las membranas eritrocíticas y los flagelos dan a los microorganismos la fuerza mecánica para invadir los glóbulos rojos. *B. bacilliformis* también invade células endoteliales y otros tipos de células *in vitro* de ser humano.

La bartonelosis se limita a las zonas montañosas de Los Andes en la zona tropical de Perú, Colombia y Ecuador y es transmitida por moscas de arena del genero *Lutzomyia.*

B. bacilliformis prolifera en agar nutritivo semisólido que contenga 10% de suero de conejo y 0.5% de hemoglobina. Después de 10 días o más de incubación a 28°C el medio se enturbia y en las extensiones teñidas con método de Giemsa se identifican los microorganismos cilíndricos y granulosos.

Es importante administrar ciprofloxacina, doxiciclina, ampicilina y sulfametoxazol-trimetroprim al menos durante una semana. Cabe recurrir a la terapia parenteral si la persona no puede absorber los medicamentos ingeribles. El cloranfenicol se ha utilizado para tratar eficazmente infecciones por *B. bacilliformis,* particularmente en América del Sur, pero tal fármaco no se distribuye ya en Estados Unidos y es mejor no incluirlo en el tratamiento. Junto con las transfusiones de sangre, cuando estén indicadas, los antimicrobianos disminuyen grandemente el índice de mortalidad. El control de la enfermedad depende de eliminar las moscas de arena vectoras: son útiles insecticidas, repelentes de insectos y la eliminación de las zonas de cría de las moscas de arena. La prevención con antibióticos a veces es útil.

Bartonella henselae y Bartonella quintana

A. Linforreticulosis benigna

La linforreticulosis benigna (antes llamada enfermedad por arañazo de gato) suele ser un trastorno benigno, autorremitente, se manifiesta por fiebre y linfadenopatía que aparece unas dos semanas después de estar en contacto con un gato (por lo común después de un arañazo, lamedura, mordedura o tal vez picadura de una pulga). En ese sitio, tres a 10 días después del contacto surge una lesión primaria en la piel (pápula o pústula). El estado de la persona puede parecer adecuado, pero por lo regular hay febrícula y a veces cefalea, faringitis o conjuntivitis. Hay notable agrandamiento y a veces adolorimiento de los ganglios linfáticos regionales, pero quizá no ceda durante semanas o meses e incluso pueden llegar a supurar, y de ellos manar pus. En Estados Unidos, según expertos, surgen cada año más de 20 000 casos. El diagnóstico de linforreticulosis benigna se basa en: 1) datos sugerentes de la anamnesis y la exploración física; 2) aspiración de pus de ganglios linfáticos que no contienen bacterias detectables por cultivos corrientes, y 3) signos histopatológicos característicos, que incluyen lesiones granulomatosas y en las que hay bacterias que se identifican en tinciones con impregnación argéntica. También se ha incluido como criterio la positividad de una cutirreacción, pero posee sólo interés histórico. El diagnóstico se refuerza netamente al detectar una cuantificación de 1:64 o más en una sola muestra de suero, con la prueba de anticuerpos fluorescentes directos, pero la aparición de ese título diagnóstico puede tardar; los enzimoinmunoanálisis también son útiles.

La linforreticulosis benigna es causada por *B. henselae,* una bacteria gramnegativa pleomórfica pequeña que aparece más bien en las paredes de los capilares cerca de zonas de hiperplasia folicular o dentro de microabscesos. Los microorganismos se identifican mejor en cortes de tejidos teñidos con el método de impregnación argéntica de Warthin-Starry; también se les detecta por tinciones inmunofluorescentes. En esta enfermedad relativamente benigna por lo común no se recomienda hacer los cultivos de *B. henselae.*

El reservorio de *B. henselae* es el gato doméstico, y la tercera parte de los gatos o más (y posiblemente sus pulgas) pueden estar infectados. Según expertos, el contacto con dichos animales infectados a través de lesiones cutáneas es la forma en que se comunica la infección. La linforreticulosis benigna suele aparecer en personas inmunocompetentes y suele ser autorremitente. El tratamiento es más bien de sostén, con tranquilización verbal, compresas húmedas y calientes y analgésicos. Los síntomas pueden mejorar con la aspiración de pus o la extracción quirúrgica de un ganglio linfático muy grande. Pueden ser útiles la tetraciclina o la eritromicina.

B. Angiomatosis bacilar

La angiomatosis bacilar es una enfermedad predominantemente de personas inmunodeprimidas, en particular enfermos de síndrome de inmunodeficiencia adquirida. En personas inmunocompetentes surge en raras ocasiones. El trastorno se caracteriza en los estudios histopatológicos por la presencia de lesiones circunscritas con proliferación capilar lobulillar y vasos abiertos y redondos con células de endotelio cúbico que sobresalen al inferior del vaso. Un signo notable son los histiocitos epitelioides rodeados por una matriz fibromixoide laxa. Los bacilos pleomórficos se identifican también en el tejido subendotelial después de teñirlo con el método de impregnación argéntica de Warthin-Starry. A veces se observa infiltración de las lesiones por parte de polimorfonucleares.

La angiomatosis bacilar, en su forma común, comienza con una pápula roja cada vez mayor (similar a una frambuesa), y a su alrededor a menudo tiene escamas y eritemas. Las lesiones se agrandan y alcanzan algunos centímetros de diámetro y se ulceran. Puede haber una o varias de ellas. El aspecto clínico suele ser semejante al del sarcoma de Kaposi en enfermos de SIDA, pero las dos enfermedades son diferentes en su arquitectura histológica. La angiomatosis bacilar afecta prácticamente cualquier órgano. El ataque del hígado (y del bazo) se caracteriza por proliferación de espacios quísticos con sangre, rodeados de una matriz fibromixoide que contiene las bacterias; esta forma de la enfermedad ha sido llamada **púrpura hepática** (antes peliosis), y suele acompañarse de fiebre, adelgazamiento y dolor abdominal. Aparece también una forma bacteriémica de la infección que incluye signos inespecíficos como malestar general, fiebre y pérdida ponderal.

El diagnóstico se confirma por los signos histopatológicos característicos y la demostración de los bacilos pleomórficos en cortes teñidos con plata. Es posible aislar *B. henselae* y *B. quintana* por cultivo directo de material de biopsia de tejido afectado obtenido con gran cuidado, para que no contenga bacterias contaminantes cutáneas. Las muestras de biopsia se homogenizan en un medio de cultivo de tejido suplementado y se inoculan en agar chocolate fresco y agar en infusión de corazón, con sangre de conejo al 5%. Se pueden inocular en los mismos medios los cultivos de sangre teñidos por el medio de lisis-centrifugación. Los cultivos deben incubarse en CO_2 al 5% a 36°C durante un mínimo de tres semanas. Las muestras también se pueden cultivar en monocapas de cultivos de tejidos eucarióticos. Desde el punto de vista bioquímico *B. henselae* y *B. quintana* son relativamente inertes, y en ello se incluyen negatividad de las reacciones de catalasa y oxidasa y de los métodos de utilización de carbohidratos. Con métodos para identificar enzimas preformadas se puede detectar actividad enzimática con sustratos aminoácidos. La identificación definitiva se logra al establecer secuencias del gen de RNA 16S ribosómico en parte o en su totalidad, amplificado por la reacción en cadena de la polimerasa. La angiomatosis bacilar se trata con eritromicina o doxiciclina ingeribles (a las que se agrega gentamicina en sujetos en muy grave estado), durante un mínimo de dos meses. Las recidivas son frecuentes, pero pueden ser tratadas con los mismos fármacos que se utilizaron en el comienzo del tratamiento.

El reservorio de *B. henselae* por lo común es el gato doméstico, y las personas que muestran dicho patógeno como causa de angiomatosis bacilar suelen tener contacto con el animal mencionado o el antecedente de picaduras de pulgas de gato. Los únicos reservorios conocidos de *B. quintana* son las personas y los piojos corporales.

BACTERIAS QUE CAUSAN VAGINOSIS

La vaginosis bacteriana es un trastorno frecuente de la vagina de mujeres en etapa de reproducción. Se relaciona con la rotura prematura de membranas y el parto y nacimiento de productos pretérmino. El trastorno clínico tiene un origen microbiológico complejo; con el cuadro patológico se han relacionado específicamente dos microorganismos, *Gardnerella vaginalis* y especies de *Mobiluncus*.

Gardnerella vaginalis

G. vaginalis es un microorganismo serológicamente peculiar, que se aísla de las vías genitourinarias normales de la mujer y que se ha vinculado con vaginosis, cuadro que recibe tal nombre porque no se detectan células de inflamación. En extensiones húmedas, esta vaginitis "inespecífica", o **vaginosis bacteriana**, genera células que son del epitelio vaginal cubiertas por muchos bacilos con variabilidad en la tinción al Gram y, por otro lado, no se identifican otras causas comunes de vaginitis como tricomonas o levaduras. La secreción que sale de la vagina suele tener un olor "a pescado" característico y contiene muchos anaerobios además de *G. vaginalis.* El pH de las secreciones vaginales es mayor de 4.5 (el pH normal es menor de esa cifra). La vaginosis atribuida a dicho microorganismo se puede suprimir con metronidazol, lo cual sugiere un vínculo con los anaerobios. El metronidazol ingerible por lo común cura el trastorno.

Mobiluncus

El género en cuestión comprende bacilos anaeróbicos gramnegativos o con variabilidad a esta técnica de tinción, curvos, móviles, aislados de la "**vaginosis bacteriana**" que pudiera ser una variante clínica de las vaginosis en que participa *G. vaginalis.* Es posible que mobiluncus sea parte de la flora anaeróbica normal de la vagina y que también sea parte de dicha flora en la vaginosis bacteriana. Los microorganismos suelen detectarse a menudo en las extensiones de secreciones vaginales teñidas con técnica de Gram, pero proliferan con dificultad en cultivos para anaerobios.

STREPTOBACILLUS MONILIFORMIS

S. moniliformis es un microorganismo muy pleomórfico, gramnegativo y aeróbico que forma cadenas irregulares de bacilos intercaladas con agrandamientos fusiformes y cuerpos redondos grandes. Prolifera mejor a 37°C en medios que contienen proteína sérica, yema de huevo o almidón, pero deja de proliferar a 22°C. Las formas L se pueden demostrar en muchos cultivos de este patógeno. En los subcultivos de colonias puras de las formas L en medios líquidos se pueden obtener de nuevo los estreptobacilos. Todas las subespecies de estreptobacilos al parecer son antigénicamente idénticas.

S. moniliformis es hospedador normal de la faringe de ratas y los humanos pueden ser infectados por la mordedura de dicho animal. La enfermedad del ser humano, llamada eritema artrítico epidémico o **fiebre por mordedura de rata** , se caracteriza por fiebre séptica, erupciones de manchas rojo azuladas y petequiales y poliartritis muy dolorosa. El diagnóstico se confirma con resultados de cultivos de sangre, líquido sinovial o pus; con inoculación de ratones, y con pruebas de aglutinación sérica.

El microorganismo mencionado también ocasiona infección después de ser ingerido con la leche; en este caso el trastorno recibe el nombre de fiebre de Haverhill y ha surgido en epidemias.

La penicilina y tal vez otros antibióticos muestran eficacia terapéutica.

La fiebre recién mencionada que tiene manifestaciones clínicas un poco diferentes (sodoku) es causada por *Spirillum minor* (cap. 24).

CALYMMATOBACTERIUM (DONOVANIA) GRANULOMATIS

C. granulomatis, con características similares a las de las klebsiellas, causa **granuloma inginal**, una enfermedad poco común de transmisión sexual que se caracteriza por úlceras en genitales. El microorganismo crece difícilmente en medios que contienen yema de huevo. El tratamiento eficaz incluye ampicilina o tetraciclina.

ENFERMEDAD DE WHIPPLE

La enfermedad en cuestión se caracteriza por fiebre, dolor abdominal, diarrea, adelgazamiento y poliartralgia migratoria. El cuadro primario incluye ataque del intestino delgado y de ganglios linfáticos mesentéricos, pero puede abarcar cualquier órgano. En su cuadro histológico se advierte notable infiltración por macrófagos, y depósitos de grasa. Un elemento patognomónico de la enfermedad lo constituyen las vacuolas características dentro del macrófago, que captan el colorante ácido peryódico de Schiff (PAS, *periodic acid-Schiff*). El material intracelular y extracelular que capta el ácido mencionado está presente en bacilos. Desde el punto de vista histórico mostraron negatividad los cultivos sistemáticos de muestras clínicas, pero en fecha reciente se pudo cultivar el microorganismo en células eucarióticas (fibroblastos de seres humanos, monocitos desactivados de sangre periférica). Antes de lograr el cultivo del microorganismo, por medio de la amplificación por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de RNA ribosómico 16S bacteriano, se pudo identificar en las lesiones la secuencia peculiar propia de la bacteria. Por análisis filogenético, se ha observado que el microorganismo es un actinomiceto grampositivo que no tiene relación con género alguno conocido y se le asignó el nombre de *Tropheryma whipplei.* El diagnóstico de la enfermedad se hace por amplificación, mediante PCR, de una muestra apropiada (fragmento de intestino o cerebro para biopsia u otros tejidos) para identificar el microoganismo mencionado.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Los seres humanos son infectados por *Legionella pneumophila* a través de los mecanismos siguientes:
   (A) Beber agua contaminada con *Acanthamoeba castellani* que contiene *Legionella pneumophila*
   (B) Besar a una persona portadora de *Legionella*
   (C) Respirar aerosoles de origen hídrico ambiental
   (D) Sufrir la picadura de un mosquito
   (E) Consumir carne de cerdo mal cocida
2. Una niña de 11 años presentó en forma aguda fiebre, escalofrío, cefalea, vómito y artralgias migratorias intensas (dolor de articulaciones) y mialgias (dolor de músculos). Dos días después presentó maculopápulas en palmas y plantas de extremidades. Al mismo tiempo mostró extraordinario dolor e hinchazón de la rodilla izquierda. En la exploración se demostró la presencia de líquido en el interior de la rodilla. En el interrogatorio más detenido se indicó que ella tenía como mascota una rata con la que jugaba a menudo. El cultivo del líquido extraído de la rodilla, hecho en agar sangre al 5% de cordero, indicó colonias de 2 mm después de tres días de incubación. El cultivo en caldo señaló una proliferación pequeña similar a la del fruto llamado cuesco de lobo. La tinción con método de Gram indicó la presencia de un bacilo gramnegativo de 0.5 μm de ancho y 1 a 4 μm de largo. Se identificaron algunas formas extraordinariamente largas (incluso de 150 μm) con cadenas parecidas a cuentas, tumefacciones fusiformes y grandes cuerpos redondos. El microbiólogo que analizó la extensión teñida con el método de Gram inmediatamente detectó la causa de la infección, que fue
   (A) *Treponema pallidum*
   (B) *Streptococcus moniliformis*
   (C) *Francisella tularensis*
   (D) *Bartonella bacilliformis*
   (E) *Yersinia pestis*
3. Varón de 70 años que es llevado al médico con neumonía bilateral. Se identificó en su orina el antígeno de *Legionella*. De los microorganismos siguientes, ¿cuál es el que muy probablemente causó su neumonía?
   (A) *Legionella pneumophila* serotipo 1
   (B) *Legionella micdadei* serotipo 4
   (C) *Legionella bozemanii* serotipo 2
   (D) *Legionella longbeachae* serotipo 2
   (E) Todas las mencionadas, porque el antígeno en orina muestra especificidad de género y no de especie y no tiene especificidad de serotipo
4. Mujer de 28 años que acudió a la clínica porque se descubrió una secreción vaginal gris blanquecina fétida, que detectó por primera vez hace seis días. Los últimos 30 días mostró actividad sexual con un solo compañero nuevo. En la exploración física se detectó secreción acuosa, homogénea, gris blanquecina, adherida a la pared de la vagina, pero no manaba secreción del orificio cervical. La exploración bimanual ginecológica fue normal y el resto de la exploración física también. El pH del líquido vaginal fue de 5.5 (normal menor de 4.5). Cuando se le agregó hidróxido de potasio en una laminilla se percibió un olor amínico (a pescado). En la preparación húmeda de líquido se advirtieron muchas células epiteliales con bacterias adheridas, propias de la vaginosis. No se identificaron polimorfonucleares. El diagnóstico fue
   (A) Gonorrea
   (B) Vaginitis por *Trichomonas vaginalis*
   (C) Sífilis
   (D) Vaginitis por levaduras
   (E) Vaginosis bacteriana
5. Un varón de 70 años fue llevado a la sala de urgencias y ahí señalo que se sentía con fiebre y "muy cansado". Desde hacía mucho fumaba cigarrillos, pero en las últimas semanas incrementó sobremanera dicho hábito y había expulsado esputo blanquecino. El día anterior tuvo temperatura de 38°C y diarrea acuosa. En la exploración física se detectaron sibilancias inspiratorias y espiratorias y estertores en el campo pulmonar inferior derecho. En la radiografía de tórax se observó un infiltrado irregular en el lóbulo inferior derecho. Las entidades por incluir en el diagnóstico diferencial de la enfermedad en este caso son
   (A) Neumonía por *Streptococcus pneumoniae*
   (B) Neumonía por *Legionella pneumophila*

(C) Neumonía por *Haemophilus influenzae*
(D) Neumonía por *Mycoplasma pneumoniae*
(E) Todas las mencionadas

6. Los cultivos sistemáticos de esputo del paciente del ejemplo anterior permitieron la proliferación de flora normal. La administración de ampicilina durante 12 días no mejoró el cuadro clínico. Se pensó en legionelosis y se practicó broncoscopia para obtener líquido de lavado broncoalveolar, muestras profundas de vías respiratorias. De los métodos de diagnóstico siguientes, ¿cuál podría sugerir el diagnóstico de enfermedad causada por *Legionella pneumophila* tipo 1?
(A) Medición de antígeno de *Legionella* en orina
(B) Anticuerpos fluorescentes directos en el líquido de lavado broncoalveolar
(C) Cultivo del líquido broncoalveolar en el medio con extracto de levadura y carbón vegetal, y antibióticos
(D) Cuantificación de anticuerpos en pares de sueros (fases aguda y de convalecencia)
(E) Todas las mencionadas

7. El carbón vegetal se incluye en el agar amortiguado, con extracto de levadura y carbón vegetal (BCYE) utilizado para el aislamiento de *Legionella pneumophila* y tiene como función
(A) Aportar los factores de crecimiento que por lo común suministran las amebas de vida libre presentes en el agua ambiental
(B) Servir como fuente de carbono para la proliferación de *Legionella pneumophila*
(C) Evitar la hemólisis de eritrocitos en el medio de laboratorio
(D) Generar un fondo oscuro
(E) Servir de desintoxicante

8. Una mujer de 23 años acude por primera vez al médico, con el antecedente de febrícula y cefalea durante tres días. En la exploración se advierte que los ganglios linfáticos cerca del codo y de la axila izquierda están agrandados y un poco dolorosos al tacto. Unas semanas antes visitó a un amigo cuyo gato la arañó en el brazo izquierdo; en ese sitio presentó más tarde una pápula rojiza. De los planteamientos siguientes respecto a la enfermedad por arañazo de gato, ¿cuál es el más acertado?
(A) El diagnóstico se basa en datos sugerentes del interrogatorio y la exploración física
(B) El diagnóstico se basa en que no hay bacterias en los cultivos sistemáticos de pus aspirado de los ganglios linfáticos afectados
(C) La enfermedad por lo común cede por sí sola en personas inmunocompetentes
(D) El agente etiológico es *Bartonella henselae*
(E) Todos los puntos anteriores

9. De los planteamientos siguientes sobre los angiomatosis bacilar, ¿cuál es el más acertado?
(A) Es causado por *Bartonella bacilliformis*
(B) Típicamente se circunscribe a la piel
(C) La principal entidad en el diagnóstico diferencial es el sarcoma de Kaposi
(D) El agente etiológico se puede cultivar durante uno a dos días sistemáticamente en agar-sangre de cordero
(E) Los perros son el reservorio del agente etiológico

10. Un factor importante en la patogenia de la legionelosis es que
(A) *Legionella pneumophila* destruye polimorfonucleares
(B) Los macrófagos alveolares fagocitan *Legionella pneumophila,* y para ello se valen de seudópodos
(C) *Legionella pneumophila* invade capilares pulmonares y con ello se disemina y origina enfermedad generalizada
(D) *Legionella pneumophila* induce a los fagosomas de macrófagos alveolares a que se fusionen con los lisosomas
(E) La proteína A de la superficie exterior de *Legionella pneumophila* (OspA) es importante para la invasión de los macrófagos alveolares

Respuestas

1. C	4. E	7. E	10. B
2. B	5. E	8. E	
3. A	6. E	9. C	

BIBLIOGRAFÍA

Chomel BB, Rolain JM: *Bartonella*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.
Edelstein PH: *Legionella*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.
Edelstein PH, Cianciotto NP: *Legionella*. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.
Hart G: Donovanosis. Clin Infect Dis 1997;25:24.
Muder RR: Other *Legionella* species. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.
Slater LN, Welch DF: *Bartonella*, including cat-scratch disease. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.



C A P Í T U L O

23

Micobacterias

Las micobacterias son bacterias aeróbicas de contornos cilíndricos, que no forman esporas. No captan fácilmente los colorantes, pero una vez teñidas resisten la decoloración por ácido o alcohol y por esa razón se les ha llamado bacilos "ácido-alcohol-resistentes" o "acidorresistentes". *Mycobacterium tuberculosis* causa tuberculosis y es un patógeno de extraordinaria importancia para los seres humanos. *Mycobacterium leprae* causa la lepra. *Mycobacterium avium-intracellulare (*complejo de *M. avium*, o MAC [*M. avium* complex]) y otras micobacterias no tuberculosas suelen infectar personas con SIDA, son patógenos oportunistas en otros individuos inmunodeficientes y a veces causan enfermedad en personas con sistemas inmunitarios normales. Se conocen más de 125 especies de *Mycobacterium,* incluidas muchas formas saprófitas. Las micobacterias que infectan seres humanos se incluyen en el cuadro 23-1.

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

En los tejidos, los bacilos tuberculosos son finas estructuras rectas cilíndricas que miden 0.4 × 3 μm, aproximadamente (fig. 23-1). En medios artificiales se les identifica por ser formas cocoides y filamentosas, cuya morfología varía con la especie. Es imposible clasificar las micobacterias en grampositivas o gramnegativas. Una vez que captan los colorantes básicos el alcohol no las decolora, independientemente del tratamiento con yodo. Los bacilos tuberculosos verdaderos se caracterizan por su resistencia a la decoloración, es decir, la mezcla de alcohol etílico al 95% y ácido clorhídrico al 3% (ácido-alcohol), decolora rápidamente todas las bacterias, excepto las micobacterias. Tal resistencia depende de la integridad de la cubierta cérea. La **técnica de Ziehl-Neelsen** se emplea para la tinción y la identificación de las bacterias acidorresistentes; en el capítulo 47 se señala el método y sus detalles. En extensiones de esputo o cortes de tejido se demuestra la presencia de micobacterias por la fluorescencia amarillo-naranja después de aplicar los colorantes fluorocrómicos (auramina, rodamina). La facilidad con la que se visualizan los bacilos acidorresistentes con los colorantes fluorocrómicos los torna idóneos para este tipo de muestras clínicas.

B. Cultivo

Los medios para el cultivo primario de micobacterias deben incluir uno de tipo no selectivo y otro selectivo. Los de este último tipo contienen antibióticos para evitar la proliferación excesiva de bacterias y hongos contaminantes. Se conocen tres fórmulas generales que pueden utilizarse para los dos tipos mencionados de medios.

1. Medio de agar semisintético. Los medios de esta categoría (como Middlebrook 7H10 y 7H11) contienen sales definidas, vitaminas, cofactores, ácido oleico, albúmina, catalasa y glicerol; el medio 7H11 contiene también hidrolizado de caseína. La albúmina neutraliza los efectos tóxicos e inhibidores de los ácidos grasos en la muestra o el medio de cultivo. Los grandes inóculos permiten la proliferación en los medios mencionados, en el curso de semanas; dado que se necesitan tales inóculos, los medios mencionados pueden ser menos sensibles que otros para el aislamiento primario de micobacterias.

Los medios de agar semisintéticos se utilizan para observar la morfología de las colonias para evaluar la susceptibilidad y si se les agrega antibióticos y verde de malaquita, sirven como medios selectivos.

2. Medios de huevo espesado. Los medios en cuestión (como el de Löwenstein-Jensen) contienen sales definidas, glicerol y sustancias orgánicas complejas (como serían huevos frescos o yemas de huevo, harina de papa y otros ingredientes en combinaciones). Se incluye el verde de malaquita para inhibir la proliferación de otras bacterias. Los inóculos pequeños en muestras teñidas de los pacientes proliferarán en dichos medios en un lapso de tres a seis semanas.

Los medios en cuestión, con la adición de antibióticos, se utilizan como medios selectivos.

3. Caldos (como medios). Los caldos señalados (Middlebrook 7H9 y 7H12) permiten la proliferación de inóculos pequeños. Por lo común, las micobacterias proliferan en cúmulos o masas, dado el carácter hidrófobo de la superficie celular. Si se agregan ésteres hidrosolubles de ácidos grasos (*tweens*), humedecen la superficie y permiten la proliferación dispersa en el medio líquido. En ellos es más rápida la multiplicación de los microorganismos que en medios complejos.

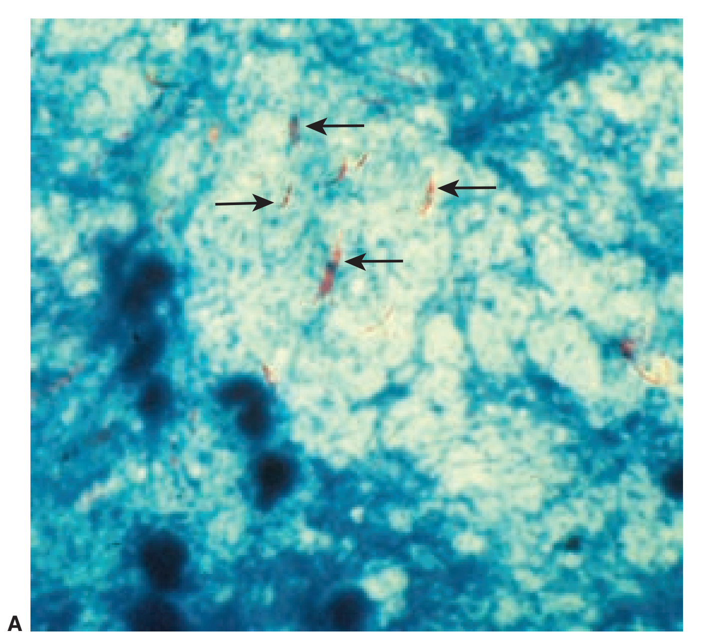
C. Características de crecimiento

Las micobacterias son aerobios obligados y obtienen energía de la oxidación de muchos compuestos simples de carbono. La mayor tensión de CO_2 intensifica la proliferación. Las actividades bioquímicas no son características y la rapidez de proliferación es mucho menor que la de muchas bacterias. El tiempo "en que

CUADRO 23-1 Micobacterias que infectan personas

Especie	Reservorio	Manifestaciones clínicas comunes; comentarios
ESPECIE CONSIDERADA SIEMPRE COMO PATÓGENA		
Mycobacterium tuberculosis	Humanos	Tuberculosis pulmonar y diseminada; cada año surgen millones de casos a nivel mundial
Mycobacterium leprae	Humanos	Lepra
Mycobacterium bovis	Humanos y ganado bovino	Cuadro similar a tuberculosis; rara en Estados Unidos; *Mycobacterium bovis* es muy similar a *Mycobacterium tuberculosis*
ESPECIES QUE PUEDEN SER PATÓGENAS PARA LOS HUMANOS		
Causas moderadamente frecuentes de enfermedad		
Complejo de *Mycobacterium avium*	Tierra, agua, pájaros, aves de corral, cerdos, ganado bovino, entorno	Cuadro pulmonar diseminado; muy frecuentemente afecta sujetos con SIDA; aparece en otros pacientes con daño inmunológico; poco común en individuos con sistema inmunitario normal
Mycobacterium kansasii	Agua, ganado bovino	Pulmones y otros sitios
Causas poco comunes o muy raras de enfermedad		
Mycobacterium africanum	Humanos y monos	Cultivos de material pulmonar; se asemeja al cuadro de *Mycobacterium tuberculosis;* raro
Mycobacterium genavense	Humanos, pájaros que sirven de mascotas	Sangre en pacientes de SIDA; prolifera en un medio líquido (BACTEC) y en un medio sólido suplementado con mycobactin j; prolifera en un lapso de 2 a 8 semanas
Mycobacterium haemophilum	Se desconoce	Nódulos y úlceras subcutáneas predominantemente en enfermos de SIDA; necesita de hemoglobina o hemina; prolifera a 28 a 32°C; es un microorganismo raro
Mycobacterium malmoense	Se desconoce; entorno	Pulmonares, similar a tuberculosis (adultos), ganglios linfáticos (niños); se señala predominantemente en enfermos que se han informado en Suecia, pero el microorganismo puede mostrar una distribución mucho más amplia; *Mycobacterium malmoense* guarda íntima relación con *Mycobacterium avium-intracellulare*; se necesitan 8 a 12 semanas para que prolifere
Mycobacterium marinum	Pez y agua	
Mycobacterium scrofulaceum	Tierra, agua, alimentos frescos	Nódulos y abscesos subcutáneos, úlceras de piel
Mycobacterium nonchromogenicum	Entorno	Linfadenitis cervical; el cuadro por lo común cura por medio de incisión, drenaje y extirpación de los ganglios afectados
Mycobacterium simiae	Monos, agua	Patógeno primario en el complejo de *Mycobacterium terrae*. Origina tenosinovitis en la mano
Mycobacterium szulgai	Se desconoce	Pulmonares, forma diseminada en pacientes de SIDA; germen raro
Mycobacterium ulcerans	Humanos, entorno	Pulmonares, similares a tuberculosis; microorganismo raro
		Nódulos subcutáneos y úlceras; puede causar un cuadro grave; *Mycobacterium ulcerans* guarda íntima relación con *Mycobacterium marinum*; se necesita que transcurran 6 a 12 semanas para que prolifere; la proliferación óptima a 33°C sugiere que provino del entorno; germen raro
Mycobacterium xenopi	Agua, pájaros	Pulmonares, un cuadro similar a tuberculosis en que desde antes hubo neumopatía; cuadro raro
Micobacterias de crecimiento rápido		
Mycobacterium abscessus	Tierra, agua, animales	Es la micobacteria de crecimiento rápido aislada más a menudo de infecciones pulmonares; infecciones de piel y partes blandas; a menudo es multirresistente
Mycobacterium chelonae	Tierra, agua, animales, vida marina	Son muy comunes las lesiones cutáneas, abscesos subcutáneos e infecciones diseminadas en personas inmunodeficientes
Mycobacterium fortuitum	Tierra, agua, animales	Consiste en un complejo de microorganismos que se diferencian únicamente por métodos moleculares. Se le ha vinculado con la furunculosis de uñas de "salones de belleza"; infecciones pulmonares similares a las causadas por *Mycobacterium abscessus*
Mycobacterium immunogenum	Entorno	Vinculado con seudobrotes que dependen de equipo contaminado en los hospitales; las micobacterias aisladas se han vinculado con artropatías, úlceras de piel, infecciones por catéteres y algunos casos de neuropatías. Guarda relación íntima con *Mycobacterium chelonae-abscessus*
Mycobacterium mucogenicum	Desconocido	Las infecciones propias de catéteres venosos centrales constituyen las más importantes en las que interviene dicho microorganismo. Su nombre señala la imagen mucosa que tiene en el cultivo
ESPECIES SAPRÓFITAS QUE MUY RARA VEZ OCASIONAN ENFERMEDAD EN HUMANOS		
Mycobacterium gordonae	Agua	Las especies saprófitas de *Mycobacterium* son causas rarísimas de enfermedad en personas. La positividad en los cultivos de tales micobacterias por lo regular constituye contaminación ambiental de la muestra y no la enfermedad. Muchas de las micobacterias saprófitas proliferan mejor a temperaturas de 33°C o menores. Se han identificado otras especies saprófitas de *Mycobacterium* que no se incluyen en este cuadro y que rarísima vez (si es que así ocurre) aparecen en los cultivos de muestras de los pacientes
Mycobacterium flavescens	Tierra, agua	
Mycobacterium fallax	Tierra, agua	
Mycobacterium gastri	Material de lavado estomacal	
Mycobacterium smegmatis	Tierra, agua	
Complejo de *Mycobacterium terrae*	Tierra, agua	

A



B

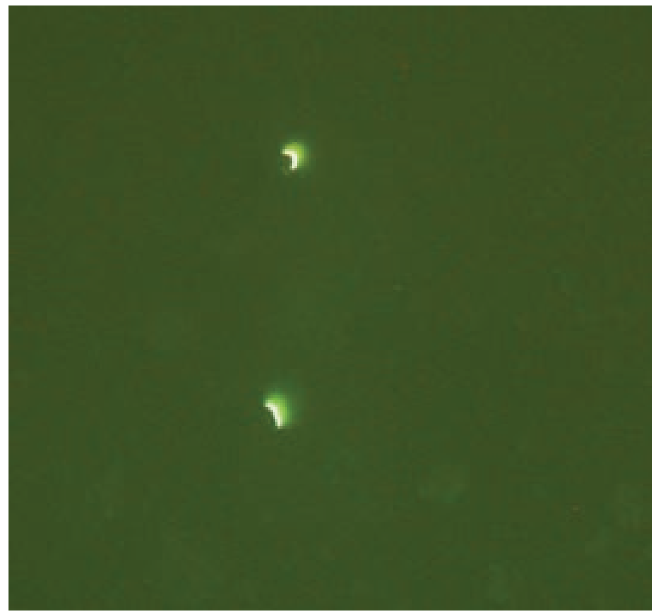


FIGURA 23-1 **A:** *Mycobacterium tuberculosis* (*flechas*) en una muestra preparada de esputo teñida con la técnica de Ziehl-Neelsen. La micobacteria es roja y se destaca contra un fondo azul. **B:** Se utilizó el colorante fluorescente auramina O para teñir una muestra de esputo. Se destacan dos *Mycobacterium tuberculosis* fluorescentes. Amplificación original × 1 000. (Por cortesía de G. Cunningham.)

se duplica" el número de bacilos tuberculosos es de 18 h. Las formas saprófitas tienden a multiplicarse con mayor rapidez, proliferan satisfactoriamente a 22 a 33°C, producen más pigmento y tienen una propiedad acidorresistente menor que las formas patógenas.

D. Reacción a agentes físicos y químicos

Las micobacterias tienden a ser más resistentes a agentes químicos que otras bacterias, por la naturaleza hidrófoba de su superficie celular y su proliferación en cúmulos. Los colorantes (como el verde de malaquita) o los antibacterianos (como la penicilina) que tienen propiedades bacteriostáticas en otras bacterias, pueden ser incorporados en medios de laboratorio sin inhibir la proliferación de los bacilos tuberculosos. Los ácidos y los álcalis permiten la supervivencia de algunos bacilos tuberculosos expuestos y se usan para eliminar microorganismos contaminantes y para la "concentración" de muestras clínicas. Los bacilos tuberculosos son resistentes al secamiento y viven largo tiempo en el esputo seco.

E. Variación

Pueden surgir variaciones en el aspecto de la colonia, su pigmentación, virulencia, temperatura para proliferación óptima y otras características celulares o de crecimiento.

F. Patogenicidad de micobacterias

Se han identificado notables diferencias de la capacidad que tienen diversas micobacterias para causar lesiones en especies de hospedadores. Los seres humanos y los cobayos son muy susceptibles a la infección por *M. tuberculosis,* en tanto que las aves de corral y el ganado bovino son resistentes. *M. tuberculosis* y *M. bovis* tienen igual capacidad patógena en las personas. La vía de infección (aparato respiratorio en comparación con vías intestinales) es el elemento del que dependen las características de las lesiones. En países desarrollados, *M. bovis* se ha vuelto muy rara. Algunas micobacterias "atípicas", calificadas ahora como no tuberculosas (como *Mycobacterium kansasii*) produce una enfermedad en humanos idéntica a la tuberculosis. Otros (como *M. fortuitum*) causan sólo lesiones superficiales o actúan como oportunistas.

Constituyentes de los bacilos tuberculosos

Los constituyentes que serán mencionados adelante están presentes más bien en la pared de los microorganismos que se describen. La pared de las micobacterias induce hiperinsensibilidad tardía y moderada resistencia a la infección y puede sustituir a la micobacteria íntegra en el medio aditivo o coadyuvante de Freund. El contenido de la micobacteria desencadena sólo reacciones de hipersensibilidad tardía en animales sensibilizados.

A. Lípidos

Las micobacterias cuentan con abundantes lípidos; incluyen ácidos micólicos (ácidos grasos de cadena larga de 78 a 90 carbonos), ceras y fosfátidos. En la célula, los lípidos en gran medida están unidos a proteínas y polisacáridos. El dipéptido muramilo (proveniente del peptidoglucano) en complejo con ácidos micólicos puede hacer que se formen granulomas; los fosfolípidos inducen la necrosis caseosa. Los lípidos en cierta medida son los que causan la propiedad acidorresistente. Después de ser eliminados por ácido caliente, desaparece el carácter acidorresistente que depende de la integridad de la pared celular y de la presencia de algunos lípidos. El carácter mencionado también se pierde después de aplicar ultrasonido en las micobacterias. El análisis de los lípidos por cromatografía gaseosa indica características que facilitan la clasificación de especies diferentes.

Las subespecies o cepas virulentas de bacilos tuberculosos forman "cordones serpentinos" microscópicos en que los bacilos acidorresistentes están dispuestos en cadenas paralelas. La formación de cordones guarda relación con la virulencia. De los bacilos virulentos se ha extraído con éter de petróleo un "factor de cordones" (trehalosa 6,6′-dimicolato). Inhibe la migración de leucocitos, causa granulomas crónicos y a veces actúa como un "coadyuvante" o estimulante inmunológico.

B. Proteínas

Cada tipo de micobacteria contiene proteínas que desencadenan la reacción tuberculínica. Las proteínas fijadas a una fracción cérea, después de ser inyectadas inducen sensibilidad a la tuberculina. También estimulan la formación de diversos anticuerpos.

C. Polisacáridos

Las micobacterias contienen diversos polisacáridos, aunque no se ha dilucidado su participación en la patogenia de la enfermedad. Inducen el tipo de hipersensibilidad inmediata y pueden actuar como antígenos en reacciones con suero de personas infectadas.

Patogenia

Las micobacterias son expulsadas en gotitas que tienen menos de 25 μm de diámetro cuando una persona infectada tose, estornuda o habla. Las gotitas se evaporan y dejan microorganismos que por su pequeñez después de inhalados pueden ser depositados en los alvéolos. Una vez en el interior de ellos, el sistema inmunitario del hospedador reacciona con la liberación de citocinas y linfocinas que estimulan a monocitos y macrófagos. Las micobacterias comienzan a multiplicarse dentro de los macrófagos y algunos de ellos terminan por tener una mayor capacidad de destruir el microorganismo, en tanto que otros pueden ser destruidos por él. Después de uno a dos meses de la exposición, aparecen en los pulmones las lesiones patógenas propias de la infección. Pueden surgir dos tipos de lesiones, que se describirán en Histopatología. La resistencia y la hipersensibilidad del hospedador influyen enormemente en la génesis y la evolución de la enfermedad y en el tipo de lesiones que aparecen.

Histopatología

La génesis y el desarrollo de lesiones y su curación o evolución dependen principalmente de: 1) el número de micobacterias en el inóculo y su multiplicación ulterior, y 2) el tipo de hospedador.

A. Dos lesiones principales

1. Tipo exudativo. La lesión mencionada consiste en una reacción inflamatoria aguda, con líquido de edema, presencia de polimorfonucleares y más tarde de monocitos alrededor de los bacilos tuberculosos. La lesión en cuestión se identifica en particular en tejido pulmonar, en donde se asemeja al cuadro de neumonía bacteriana. Puede desaparecer por resolución porque el exudado en su totalidad es absorbido, puede originar necrosis masiva de tejido o transformarse en un segundo tipo de lesión (productiva). En la fase exudativa, se torna positiva la prueba de tuberculina.

2. Tipo productivo. La lesión anterior, totalmente desarrollada, que es un granuloma crónico, comprende tres zonas: 1) una zona central de grandes células gigantes multinucleadas que contienen bacilos tuberculosos; 2) una zona media de células epitelioides pálidas dispuestas a menudo en forma radiada, y 3) una zona periférica de fibroblastos, linfocitos y monocitos. Más adelante surge tejido fibroso periférico y la zona central presenta necrosis caseosa; tal lesión recibe el nombre de tubérculo. El tubérculo caseoso puede romperse y vaciar su contenido en un bronquio y formar una cavidad. Más adelante cura por fibrosis o calcificación.

B. Propagación de microorganismos en el hospedador

Los bacilos tuberculosos se propagan en el hospedador por extensión directa, y para ello se valen de conductos linfáticos y corriente sanguínea y por los bronquios y vías gastrointestinales.

En la primoinfección los bacilos tuberculosos siempre se propagan desde el sitio inicial, por medio de vasos linfáticos a los ganglios linfáticos regionales. Los microorganismos se distribuyen más lejos y llegan a la corriente sanguínea, que a su vez los transporta a todos los órganos (distribución miliar). La invasión a la corriente sanguínea también puede hacerse porque un tubérculo o un ganglio linfático caseificados erosionan una vena, y si dicha lesión vacía su contenido en un bronquio, es aspirado y distribuido a otras zonas de los pulmones o deglutido y llega al estómago y los intestinos.

C. Sitios intracelulares de proliferación

Una vez que las micobacterias fijan su residencia en los tejidos, lo hacen más bien en el interior de los monocitos, células reticuloendoteliales y células gigantes. La localización intracelular es una de las características que dificulta la quimioterapia y facilita la persistencia microbiana. En el interior de las células de animales inmunes queda fuertemente inhibida la multiplicación de los bacilos tuberculosos.

Infección primaria (primoinfección) y reactivación de tipos de tuberculosis

Cuando el hospedador entra en contacto por primera vez con los bacilos tuberculosos, por lo común se observan los signos siguientes: 1) surge una lesión exudativa aguda que se propaga de modo rápido a vasos linfáticos y ganglios linfáticos regionales. La lesión mencionada en los tejidos suele curar a muy breve plazo. 2) El ganglio linfático experimenta caseificación masiva, y por lo común termina calcificado (lesión de Ghon). 3) La prueba con tuberculina adquiere carácter positivo.

La primoinfección mencionada ocurría en épocas pasadas por lo común en la niñez, pero en la actualidad lo hace más bien en adultos que no han sido infectados, es decir, que son tuberculinonegativos en los comienzos de la vida. En las primoinfecciones el ataque puede abarcar cualquier zona del pulmón, pero más bien lo hace en la base.

El tipo de reactivación suele depender de bacilos tuberculosos que han sobrevivido en la lesión primaria. La tuberculosis por reactivación se caracteriza por lesiones crónicas en tejido, así como por la formación de tubérculos, caseificación y fibrosis. Hay ataque mínimo de ganglios linfáticos regionales y no presentan caseificación. El tipo mencionado (por reactivación) casi siempre comienza en el vértice del pulmón, zona en que la tensión de oxígeno (Po_2) alcanza su máximo.

Las diferencias mencionadas entre la infección primaria y la reinfección o reactivación se han atribuido a: 1) resistencia y 2) hipersensibilidad inducida por la primera infección. No se ha dilucidado el grado en que cada uno de los componentes en cuestión participa en la respuesta modificada en el caso de la tuberculosis por reactivación.

Inmunidad e hipersensibilidad

Durante la primoinfección con bacilo tuberculoso el sujeto adquiere alguna resistencia y aumenta la capacidad de localizar los bacilos, retardar y limitar su multiplicación, así como aminorar la diseminación por linfáticos; todo ello es atribuible a la aparición de inmunidad de tipo celular, con la capacidad evidente de los fagocitos mononucleares para limitar la multiplicación de los microorganismos ingeridos e incluso para destruirlos.

En el curso de la infección primaria el hospedador también adquiere hipersensibilidad a los bacilos tuberculosos; ello se manifiesta por la aparición de una reacción positiva a la tuberculina (véase adelante). El bacilo tuberculoso íntegro o la tuberculoproteína en combinación con la cera soluble en cloroformo de dicho bacilo pueden inducir sensibilidad a la tuberculina, acción que no tiene la sola tuberculoproteína. La hipersensibilidad y la resistencia al parecer son factores distintos de reacciones afines mediadas por células.

Prueba de tuberculina

A. Material

La tuberculina antigua es un filtrado concentrado de caldo en que han proliferado durante seis semanas bacilos tuberculosos. Además de las tuberculoproteínas reactivas dicho material contiene otros constituyentes de los bacilos y del medio de cultivo. El derivado proteínico purificado (PPD, *purified protein derivative*) se obtiene por fraccionamiento químico de la tuberculina antigua. El derivado proteínico purificado se estandariza en términos de su reactividad biológica, en la forma de “unidades de tuberculina” (TU, *tuberculin units*). Por acuerdo internacional se define a las unidades de tuberculina como la actividad contenida en un peso especificado del lote No. 49608 de PPD de Seibert, en un amortiguador específico. Ello constituye PPD-S, que es la norma de tuberculina con la cual debe compararse la potencia de todos los productos, por biocuantificación, es decir, por el tamaño o magnitud de la reacción en humanos. La tuberculina de primera potencia tiene 1 TU; la de potencia intermedia 5 TU y la de segunda potencia 250 TU. La bioequivalencia de los productos de PPD no se basa en el peso del material, sino en la actividad comparativa.

B. Dosis de tuberculina

La dosis grande de tuberculina inyectada en un hospedador hipersensible puede ocasionar graves reacciones locales y una exacerbación de la inflamación y la necrosis en los sitios principales de infección (reacciones focales); por tal razón, para las pruebas tuberculínicas en estudios o encuestas se utilizan 5 TU; en casos de personas en quienes se sospecha hipersensibilidad extraordinaria, la cutirreacción se comienza con 1 unidad de tuberculina. Se utiliza material más concentrado (250 TU), solamente si es negativa la reacción a 5 unidades de tuberculina. El volumen suele ser 0.1 ml, inyectado por vía intracutánea. El preparado de PPD debe estabilizarse con polisorbato 80 para que no se adhiera en el vidrio (adsorción).

C. Reacciones a la tuberculina

En la persona que no ha tenido contacto con micobacterias, no aparece reacción alguna a PPD-S. Si ella ha tenido una infección primaria con bacilos tuberculosos, presentará induración, edema, eritema en un lapso de 24 a 48 h y en el caso de reacciones muy intensas incluso necrosis central. La cutirreacción debe “interpretarse” o leerse en término de 24 a 48 h. Se le considera positiva si después de inyectar 5 TU surge induración de 10 mm o más de diámetro. Las pruebas positivas tienden a persistir varios días, en tanto que las reacciones débiles desaparecen a veces con mayor rapidez.

La prueba con tuberculina adquiere positividad cuatro a seis semanas después de la infección (o de la inyección de bacilos avirulentos). Puede ser negativa en presencia de una infección tuberculosa si surge “anergia” por tuberculosis sobreaguda, sarampión, enfermedad de Hodgkin, sarcoidosis, SIDA, o inmunodepresión. En ocasiones una prueba positiva se revierte con el tratamiento a base de isoniazida en un “convertidor” reciente. Después de la vacunación con BCG (bacilo de Calmette-Guérin), hay conversión a una prueba positiva, pero ella puede durar sólo tres a siete años. Solamente la eliminación de bacilos viables de tuberculosis permite la negativización (reversión) de la prueba con tuberculina. No obstante, individuos que años atrás fueron PPD-positivos y están sanos, quizá no muestren una cutirreacción positiva. Al repetir la prueba en ellos dos semanas más tarde, la cutirreacción con PPD, “reforzada” por la inyección reciente del antígeno, generará de nuevo una induración de tamaño positivo.

D. Interpretación de la reacción tuberculínica

La positividad de la reacción tuberculínica indica que la persona mostró infección en el pasado; no denota que exista enfermedad activa ni inmunidad al trastorno. Las personas tuberculinopositivas están en peligro de presentar la enfermedad, por reactivación de la infección primaria, en tanto que las tuberculinonegativas, que nunca han estado infectadas, no presentan dicho riesgo, aunque se infecten de una fuente externa.

E. Cuantificaciones de la liberación de interferón γ para detectar tuberculosis

A veces los resultados de la cutirreacción con tuberculina son ambivalentes o equívocos, particularmente en personas que han sido vacunadas con BCG o que viven en áreas en que hay gran prevalencia de micobacterias no tuberculosas en el entorno. En un intento de mejorar la precisión diagnóstica se han creado y están en el comercio las cuantificaciones de la liberación de interferón γ en sangre completa, técnica que se basa en las respuestas inmunitarias del hospedador a los antígenos específicos de *M. tuberculosis,* activador de esterasa-6 (ESAT-6) y CFP-10, que no tienen muchas de las micobacterias no tuberculosas ni BCG. Los métodos en cuestión detectan el interferón γ liberado por linfocitos T CD4 sensibilizados en respuesta a tales antígenos. En el comercio se pueden obtener dos ensayos de ese tipo en Estados Unidos. El llamado Quantiferon-Gold (Cellestis, Valencia CA), es un procedimiento de ELISA que detecta interferón γ en sangre completa. El llamado T-SPOT-TB (Oxford Immunotech, Oxford; UK), es un análisis inmunológico con manchas (*immunospot*) tipo ELISA (ELISPOT) que utiliza mononucleares purificados de sangre periférica. Los resultados de los dos estudios son señalados como positivos, negativos o indeterminados; están aún en fase de evaluación extensa. Son susceptibles a las variaciones biológicas de la respuesta inmunitaria. Sin embargo, estudios múltiples han indicado que las cuantificaciones mencionadas son similares a la cutirreacción tuberculínica para valorar una infección latente, particularmente en personas que han recibido BCG. Sin embargo, es importante no utilizarlos en hospedadores con inmunodeficiencia grave o en niños de muy corta edad.

Cuadro clínico

El bacilo de la tuberculosis puede afectar cualquier órgano o sistema y por esa razón sus manifestaciones clínicas son proteiformes (del tipo de las de bacterias del género *Proteus*). Signos de ataque tuberculoso pueden ser fatiga, debilidad, adelgazamiento, fiebre y sudores nocturnos. La afección de los pulmones origina tos crónica y hemoptisis, que surgen por lo común en el caso de lesiones avanzadas. La meningitis o la afección de las vías urinarias surgen a veces sin que se manifiesten otros signos de tuberculosis. La diseminación por la corriente sanguínea origina tuberculosis miliar, en que hay lesiones en muchos órganos y una elevada cifra de mortalidad.

Métodos diagnósticos de laboratorio

La posibilidad de una cutirreacción tuberculínica no denota la presencia de enfermedad activa por bacilos tuberculosos y la corroboración se obtiene por el aislamiento de ellos.

A. Muestras

Las muestras comprenden esputo recién expectorado, solución de lavado gástrico, orina, líquidos pleural, cefalorraquídeo o sinovial; material de biopsia, sangre u otros productos sospechosos.

B. Descontaminación y concentración de las muestras

Las muestras de esputo y las obtenidas de otros sitios no estériles deben ser licuadas con *N*-acetil-L-cisteína, descontaminadas con hidróxido de sodio (destruye muchas de las demás bacterias y hongos), neutralizadas con amortiguadores y concentradas por centrifugación. El material obtenido de este procedimiento puede utilizarse para tinción en busca de bacilos acidorresistentes y para cultivo. El material de sitios estériles como el líquido cefalorraquídeo no necesita ser sometido a descontaminación, y puede ser centrifugado, estudiado y cultivado de manera directa.

C. Extensiones

Esputo, exudado y otros materiales son estudiados por tinción en busca de bacilos acidorresistentes. Por lo regular no se recomienda teñir el material de lavado gástrico y la orina, porque pueden estar presentes micobacterias saprófitas y con ello generar un resultado positivo. La microscopia por fluorescencia con auramina-rodamina como colorantes es más sensible que las tinciones tradicionales para acidorresistentes como la de Ziehl-Neelsen y son las técnicas preferidas para teñir el material clínico. Si en una muestra adecuada se identifican microorganismos acidorresistentes, constituye prueba presuncional de una infección por micobacterias.

D. Cultivo, identificación y pruebas de susceptibilidad

Las muestras preparadas obtenidas de sitios no estériles y las centrifugadas provenientes de sitios estériles pueden ser cultivadas de manera directa en medios selectivos y no selectivos (véanse párrafos anteriores). El cultivo selectivo en caldo suele ser el más sensible y genera resultados con gran rapidez. Los medios de agar selectivos (como el de biplaca de Löwenstein-Jensen o de Middlebrook 7H10/7H11 con antibióticos) deben ser inoculados en paralelo con medios de caldo. La incubación se hará a 35 a 37°C en CO_2 al 5 a 10% incluso durante ocho semanas. Si los cultivos son negativos, después de ser positiva la tinción para acidorresistentes o si se sospecha la presencia de micobacterias no tuberculosas de proliferación lenta (véase adelante), habrá que incubar un conjunto de medios inoculados, a temperatura menor (p. ej., 24 a 33°C) y los dos conjuntos serán incubados durante 12 semanas.

Es importante agregar un anticoagulante a la sangre para cultivo de micobacterias (por lo común el complejo de *M. avium*) y se le preparará por alguno de los tres métodos siguientes: 1) un sistema de centrifugación y lisis que se obtiene en el comercio; 2) inoculación en caldo comercial, preparado específicamente para cultivo de sangre, o 3) centrifugación de la sangre e inoculación de la capa de leucocitos con lisis de las células por desoxicolato o sin ella, en el caldo de cultivo. En paralelo se utilizarán medios sólidos.

Desde el punto de vista médico es importante definir y diferenciar *M. tuberculosis* de las demás especies de micobacterias. Es necesario identificar la especie del microorganismo aislado. Los métodos corrientes para reconocer las micobacterias incluyen observación de la rapidez de proliferación, morfología de colonias, pigmentación y perfiles bioquímicos. Los métodos corrientes necesitan del transcurso de 6 a 8 semanas para la identificación. La rapidez de proliferación permite diferenciar entre microorganismos que proliferan en siete días o menos, es decir, crecimiento rápido, de otras micobacterias (cuadro 23-1). Los **fotocromógenos** producen pigmento en la luz, pero no en la oscuridad; los **escotocromógenos** generan pigmento cuando proliferan en la oscuridad, y los **no cromógenos** (no fotocromógenos) no tienen pigmento y las colonias tienen un color claro o de piel de ante. Las especies o los complejos individuales se definen por características bioquímicas adicionales (p. ej., la positividad a la prueba de niacina, como sucede con *M. tuberculosis*; reducción de nitrato, producción de ureasa o catalasa; prueba de arilsulfatasa y otras más). La clasificación tradicional basada en los métodos corrientes de identificación se incluye en el cuadro 23-2. Se cuenta con sondas moleculares para las cuatro especies (véase adelante), y sus resultados se obtienen con mayor rapidez que con los métodos corrientes. En Estados Unidos, las cuatro especies comprenden 95% o más de las micobacterias aisladas en seres humanos y los métodos corrientes se utilizan para identificar sólo un pequeño porcentaje de tales microorganismos. Con gran rapidez han adquirido únicamente interés histórico los métodos comunes para clasificar las micobacterias, porque las sondas moleculares generan resultados con mayor rapidez y facilidad. Además, muchos laboratorios que practican técnicas moleculares tienen ya en su arsenal la identificación de secuencias del gen rRNA 16S para la detección rápida de especies que son negativas con las sondas, y envían los microorganismos a laboratorios especializados que pueden hacer el método de secuencias.

Las sondas moleculares constituyen un método rápido, sensible y específico para identificar micobacterias; pueden utilizarse en micobacterias obtenidas al proliferar en medios sólidos o en caldos de cultivo. En técnicas de hibridación se utilizan sondas de DNA que son específicas para las secuencias de rRNA del microorganismo por identificar. Cada micobacteria tiene unas 10 000 copias de rRNA y, de ese modo, se cuenta con un sistema natural de amplificación que mejora la detección. Los híbridos bicatenarios se separan de los monocatenarios no híbridos. Las sondas de DNA se unen a sustancias químicas que son activadas en los híbridos y que se detectan por quimioluminiscencia. Se utilizan sondas para el complejo de *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis, M. bovis* y *Mycobacterium africanum*), complejo de *M. avium* (*M.*

CUADRO 23-2 Clasificación tradicional de Runyon de micobacterias

Clasificación	Organismo
Complejo tuberculoso	*Mycobacterium tuberculosis* *Mycobacterium africanum* *Mycobacterium bovis*
Fotocromógenos	*Mycobacterium asiaticum* *Mycobacterium kansasii* *Mycobacterium marinum* *Mycobacterium simiae*
Escotocromógenos	*Mycobacterium flavescens* *Mycobacterium gordonae* *Mycobacterium scrofulaceum* *Mycobacterium szulgai*
No cromógenos	Complejo de *Mycobacterium avium* *Mycobacterium celatum* *Mycobacterium haemophilum* *Mycobacterium gastri* *Mycobacterium genavense* *Mycobacterium malmoense* *Mycobacterium nonchromogenicum* *Mycobacterium shimoidei* *Mycobacterium terrae* *Mycobacterium trivale* *Mycobacterium ulcerans* *Mycobacterium xenopi*
Crecimiento rápido	*Mycobacterium abscessus* Grupo de *Mycobacterium fortuitum* Grupo de *Mycobacterium chelonae* *Mycobacterium immunogenum* *Mycobacterium mucogenicum* *Mycobacterium phlei* *Mycobacterium smegmatis* *Mycobacterium vaccae*

avium, M. intracellulare y micobacterias muy similares), *M. kansasii* y *Mycobacterium gordonae.* El uso de las sondas ha abreviado el lapso de identificaciones de micobacterias químicamente infectantes, de varias semanas incluso a un día.

Para definir la especie de micobacterias se ha aplicado la cromatografía líquida de gran rendimiento (HPLC, *high-performance liquid chromatography*). Dicho método se basa en la creación de perfiles de ácidos micólicos, que varían de una especie a otra. En laboratorios especializados se practica HPLC para definir la especie de las micobacterias.

Los métodos que evalúan la susceptibilidad de las micobacterias constituyen un complemento importante para la selección de fármacos que son eficaces en el tratamiento. Para la evaluación mencionada en el caso de fármacos de primera línea, cabe recurrir a la técnica de cultivo radiométrico estandarizado de caldos. Por lo regular se realiza sólo en laboratorios especializados el procedimiento complejo más difícil y de práctica corriente basado en agar, y con él se pueden estudiar medicamentos de primera y segunda línea.

E. Detección de DNA

La reacción en cadena de la polimerasa es una técnica promisoria para la detección rápida y directa de *M. tuberculosis* en las clínicas estadounidenses; su sensibilidad global es de 55 a 90%, y su especificidad se acerca a 99%. Tiene su sensibilidad máxima cuando se aplica a muestras en que se detectaron con certeza bacilos acidorresistentes en las extensiones. En Estados Unidos la FDA ha aprobado cuando menos dos técnicas moleculares comerciales para detectar *M. tuberculosis* en muestras de esputo en las que las extensiones detectaron micobacterias, y una de tales técnicas también recibió aprobación para las muestras de vías respiratorias en las que las extensiones no detectaron tales microorganismos.

La identificación de cepas específicas de *M. tuberculosis* es importante en clínica y en epidemiología, pues permite tomar medidas como el rastreo de la transmisión de una persona a otra; el análisis de brotes de tuberculosis y la demostración de reactivación y no de reinfección de pacientes individuales. La identificación genética del DNA se practica por medio de un protocolo estandarizado que se basa en el polimorfismo de restricción de la longitud de fragmentos. En el cromosoma de muchas cepas de *M. tuberculosis* están presentes muchas copias de la secuencia de inserción *6110* (IS*6110*), y están situadas en posiciones variables. Se generan fragmentos de DNA por la digestión de endonucleasa restrictiva y son separadas por electroforesis. Se utiliza una sonda contra IS*6110* para conocer los genotipos. El método en cuestión se practica en Estados Unidos en los *Centers for Disease Control and Prevention* (Centros para Control y Prevención de Enfermedades), algunos laboratorios de salud pública estatal y otros de investigación.

Tratamiento

El tratamiento primario de infecciones por micobacterias es la quimioterapia específica y los fármacos usados para tal finalidad se señalan en el capítulo 28. En el capítulo 48 se describen dos casos de tuberculosis.

Se sabe que uno de cada 10^6 y uno de cada 10^8 bacilos de tuberculosis son mutantes espontáneos que son resistentes a la acción de antifímicos de primera línea. Si se utilizan los medicamentos solos, con gran rapidez surgen y se multiplican los bacilos resistentes. Por esa razón, con los regímenes en combinación de fármacos se obtienen índices de cura mayores de 95%.

Los dos fármacos principales utilizados para combatir la tuberculosis (antifímicos) son la **isoniazida** y la **rifampicina.** Los otros son **pirazinamida**, **etambutol** y **estreptomicina**. Los fármacos de segunda línea son más tóxicos, menos eficaces o tienen ambas características, y se recurrirá a ellos sólo en circunstancias extremas (ineficacia terapéutica y resistencia a múltiples fármacos). En esta categoría están kanamicina, capreomicina, etionamida, cicloserina, ofloxacina y ciprofloxacina.

En Estados Unidos se recomienda un régimen de cuatro medicamentos que incluye isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol para personas que muestran riesgos leve y moderado de infectarse con bacilos tuberculosos farmacorresistentes. Los factores de riesgo incluyen migración reciente de algún país de América Latina o de Asia; personas con infecciones por VIH o que están en peligro de contraerlas y viven en un área en que hay una prevalencia pequeña de bacilos tuberculosos resistentes a múltiples fármacos, y sujetos que han recibido un tratamiento con un régimen que no incluyó rifampicina.

Los regímenes corrientes que abarcan nueve meses se basan en la administración diaria de isoniazida y rifampicina; se administran en forma concomitante pirazinamida, etambutol o estreptomicina, hasta que se conocen los resultados de pruebas de susceptibilidad. La isoniazida y la rifampicina se administran todos los días durante uno a dos meses y dos veces por semana el resto del tiempo hasta los nueve meses, pero será mejor no utilizar tal régimen si existe alguna posibilidad de resistencia a fármacos. También se cuenta con algunos regímenes semestrales para el

tratamiento inicial de la tuberculosis, que por lo común utilizan tres o cuatro regímenes medicamentosos durante dos meses, para seguir con isoniazida y rifampicina dos veces por semana durante un total de seis meses. También tiene importancia el tratamiento por observación directa en enfermos no colaboradores.

La resistencia de *M. tuberculosis* a fármacos es un problema mundial y en algunos casos se han definido los mecanismos que explican dicho fenómeno, aunque no en todas las cepas resistentes. La resistencia a la isoniazida se ha vinculado con deleciones o mutaciones en el gen de catalasa-peroxidasa (*katG*); los microorganismos de ese tipo se tornan catalasa negativos o tienen una menor actividad de dicha enzima. La resistencia al fármaco mencionado también se ha vinculado con alteraciones en el gen *inhA*, que codifica una enzima y actúa en la síntesis del ácido micólico. La resistencia a la estreptomicina se ha relacionado con mutaciones en los genes *rpsL* y *rrs,* que codifican la proteína S12 ribosómica y el rRNA 16S, respectivamente. En el caso de la rifampicina, dicha resistencia se ha vinculado con alteraciones en la subunidad b de la polimerasa de RNA, que es el gen *rpoB*. Las mutaciones en *gyrA,* gen de la girasa de DNA, se han vinculado con resistencia a las fluoroquinolonas. El clínico, al escoger el tratamiento, debe tomar en consideración la posibilidad de que exista resistencia al fármaco en el sujeto con *M. tuberculosis* aislada.

M. tuberculosis resistente a la isoniazida y la rifampicina (múltiples fármacos), constituye un problema grave en el tratamiento y control de la tuberculosis. Las cepas mencionadas prevalecen en algunas áreas geográficas y poblaciones (hospitales y cárceles). Se han identificado innumerables brotes de tuberculosis causados por cepas resistentes a múltiples fármacos y asumen importancia particular en personas con infecciones con virus de inmunodeficiencia en seres humanos. Es importante tratar a los individuos con infecciones por microorganismos resistentes a múltiples fármacos o que están en grave riesgo de padecerlas, incluida la exposición a otra persona con una infección de tal índole, con arreglo a los resultados de pruebas de susceptibilidad de la cepa infectante; si no se cuenta con dichos resultados habrá que escoger fármacos con arreglo a las características habidas de susceptibilidad en la comunidad, que se modificarán cuando se cuente con los resultados en cuestión. El tratamiento debe incluir un mínimo de tres fármacos o de preferencia más de ese número, a los cuales hayan demostrado susceptibilidad las micobacterias.

Se han identificado a nivel global cepas extraordinariamente resistentes a fármacos (XDR, *extensively drug resistant*); han sido definidas por la OMS como cepas de *M. tuberculosis* que son resistentes a la isoniazida y la rifampicina, a cualquier fluoroquinolona y cuando menos a tres medicamentos inyectables de segunda línea como amikacina, capreomicina o kanamicina. En países con recursos limitados se ha subestimado la prevalencia verdadera de tuberculosis por XDR, porque no se cuenta con métodos diagnósticos y de susceptibilidad. Los factores que han contribuido a la epidemia global comprenden tratamiento antifímico ineficaz, carencia de métodos diagnósticos apropiados y, de mayor importancia, deficientes prácticas de erradicación y control de la infección. Los individuos infectados por tuberculosis XDR tienen un pronóstico clínico malo y existe la posibilidad de que 64% de ellos fallezcan durante el tratamiento, en comparación con personas infectadas con cepas susceptibles. En 2006, el Grupo de Trabajo Global de XDR-TB y la OMS planteó recomendaciones integrales y de aspectos diferentes para enfrentar la epidemia de XDR-TB (http://www.who.int/tb/features_archive/global_taskforce_report/en/).

Aspectos epidemiológicos

La fuente más frecuente de infección la constituye la persona que excreta gran número de bacilos tuberculosos, en particular de sus vías respiratorias. Vuelven muy factible la transmisión por gotitas secas, el contacto íntimo (dentro del grupo familiar) y la exposición masiva (en caso del personal médico).

La susceptibilidad a la tuberculosis está en función del riesgo de contagiarse de la infección y de que surja enfermedad clínica una vez ocurrida ésta. En la persona tuberculinonegativa, el riesgo de contagiarse de bacilos tuberculosos depende de la exposición a fuentes de bacilos infecciosos, en particular pacientes que tienen los bacilos en su esputo (positivos); dicho riesgo es proporcional a la cifra de infección activa en la población, el apiñamiento, pertenecer a las clases socioeconómicos indigentes y la inadecuación de la atención médica.

La aparición y desarrollo de la enfermedad clínica después de la infección puede tener un componente genético (ello se ha comprobado en animales y los datos sugieren que en los seres humanos hay una mayor incidencia de la enfermedad en personas con el antígeno de histocompatibilidad HLA-Bw15). Tal situación recibe la influencia de la edad (el riesgo alto se observa en la lactancia y en la senectud), la desnutrición y el estado inmunológico, enfermedades coexistentes (como silicosis o diabetes) y otros factores de resistencia del hospedador individual.

La infección aparece en edad más temprana en poblaciones urbanas que en las rurales y surge sólo en una proporción pequeña de individuos infectados. En Estados Unidos en la actualidad la enfermedad activa posee algunas características epidemiológicas en que algunas personas están expuestas a un mayor riesgo: minorías predominantemente afroestadounidenses y personas de origen latino; migrantes de países con elevada endemicidad; personas infectadas por VIH, individuos sin hogar y personas de muy corta o muy grande edad. La incidencia de tuberculosis es especialmente grande en minorías con infecciones por VIH. La infección primaria puede surgir en cualquier individuo expuesto a un agente infeccioso. Los pacientes que han tenido tuberculosis pueden infectarse por segunda vez de fuentes exógenas. La tuberculosis por reactivación exógena se observa más a menudo en individuos con inmunodepresión por SIDA y ancianos malnutridos o alcohólicos indigentes.

Prevención y erradicación

1. Elementos fundamentales para la erradicación en la tuberculosis, en el renglón de la salud pública, serían el tratamiento expedito y eficaz de individuos con tuberculosis activa y la vigilancia cuidadosa de sus contactos por medio de reacciones de tuberculina, radiografías y terapias apropiadas.
2. La farmacoterapia de personas tuberculinopositivas asintomáticas en los grupos de edad más predispuestos a presentar complicaciones (como los niños) y en personas tuberculinopositivas que deben recibir fármacos inmunosupresores, disminuye enormemente la reactivación de la infección.
3. Resistencia del hospedador individual: factores inespecíficos pueden aminorar la resistencia del hospedador y facilitar la conversión de una infección asintomática en un cuadro clínico. Ellos incluyen inanición, gastrectomía y supresión de la inmunidad de tipo celular por fármacos (como corticoesteroides) o infecciones. La infección por VIH constituye un grave factor de riesgo de tuberculosis.

4. Vacunación: algunas vacunas con bacilos avirulentos vivos, en particular el de Calmette-Guérin (BCG, *bacillus Calmette-Guérin*; un microorganismo bovino atenuado) se han usado para inducir algún grado de resistencia en personas muy expuestas a las infecciones. La vacunación con dichos microorganismos sustituye a la infección primaria con bacilos virulentos de tuberculosis, sin el peligro inherente de esta última situación. Las vacunas que se distribuyen no son adecuadas respecto a muchas normas técnicas y biológicas. Sin embargo, BCG se aplica a niños en muchos países. Las pruebas estadísticas señalan que después de la vacunación mejora la resistencia durante un lapso limitado.
5. La erradicación de la tuberculosis en ganado bovino y la pasteurización de leche han disminuido enormemente el número de infecciones por *M. bovis*.

OTRAS MICOBACTERIAS

Además de los bacilos de la tuberculosis (*M. tuberculosis*, *M. bovis*), de muestras de personas, en los últimos decenios se han identificado por cultivo otras micobacterias con grados diversos de patogenicidad. Tales microorganismos "atípicos" fueron agrupados inicialmente con arreglo a la rapidez de proliferación en diversas temperaturas y la producción de pigmentos (véanse párrafos anteriores). En la actualidad algunos han sido identificados por medio de sondas o técnicas de secuencias de ácido desoxirribonucleico. Muchos aparecen en el entorno, no son transmitidos fácilmente de una persona a otra y constituyen patógenos oportunistas (cuadro 23-1).

En seguida se describen especies o complejos que son causa significativa de la enfermedad.

Complejo de *Mycobacterium avium*

El complejo en cuestión recibe a menudo el nombre de MAC (*Mycobacterium avium complex*) o MAI (*M. avium intracellulare*). Los microorganismos en cuestión proliferan de manera óptima a 41°C y generan colonias no pigmentadas, blandas y lisas. Aparecen en cualquier sitio del entorno y han sido cultivados de agua, tierra, alimentos y animales, incluidos pájaros.

Los componentes del complejo MAC pocas veces causan enfermedad en personas inmunocompetentes. Sin embargo, en Estados Unidos la infección por MAC diseminada constituye una de las más comunes por oportunistas de origen bacteriano en enfermos de síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Aumenta sobremanera el peligro de que aparezca infección por MAC diseminada en individuos infectados por VIH cuando el número de sus linfocitos CD4-positivos disminuye a menos de 100/μl. (Consúltese el caso 17 en el capítulo 48.)

Los factores para que surja infección por VIH como género, raza, grupo étnico y riesgo individual no influyen en la génesis de la infección por MAC diseminada, pero el riesgo se agrava si la persona tuvo una infección por *Pneumocystis jiroveci*, anemia grave e interrupción de la terapia antirretroviral.

En los primeros quince años de la epidemia de SIDA, en promedio 25% y quizá 50% de sujetos infectados por VIH terminaron por mostrar bacteriemia por MAC e infección diseminada durante el curso de síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Más adelante, el empleo de antirretrovirales muy activos (HAART, *highly active antiretroviral therapy*) y de la profilaxis con azitromicina o claritromicina ha disminuido grandemente la incidencia por infección por MAC diseminada en enfermos con la inmunodeficiencia adquirida.

La exposición ambiental a veces culmina en la colonización de vías respiratorias o gastrointestinales por el complejo de *M. avium*. Después de invasión de tejidos aparece bacteriemia transitoria. Surge bacteriemia persistente e infiltración extensa de tejidos, lo cual origina disfunción de órganos, y cualquier órgano y sistema puede ser atacado. En los pulmones son frecuentes nódulos, infiltrados difusos, cavidades y lesiones endobronquiales. Otras manifestaciones comprenden pericarditis, abscesos en partes blandas, lesiones cutáneas, ataque de ganglios linfáticos, infección de huesos y lesiones del sistema nervioso central. El cuadro inicial suele incluir síntomas inespecíficos como fiebre, sudores nocturnos, dolor abdominal, diarrea y adelgazamiento. El diagnóstico se hace al cultivar microorganismos MAC de la sangre o de tejidos.

En forma sistemática los microorganismos MAC son resistentes a los antituberculosos de primera línea. Uno de los tratamientos iniciales preferidos es el que incluye claritromicina o azitromicina, además de etambutol. Otros fármacos que a veces son útiles son rifabutina, clofazimina, fluoroquinolonas y amikacina. A menudo se utilizan en combinación varios fármacos y el tratamiento debe continuar toda la vida. La terapia hace que disminuya el número de microorganismos MAC en la sangre y mejoren los síntomas clínicos.

Mycobaterium kansasii

Se trata de un fotocromógeno que necesita medios complejos para proliferar a 37°C. Puede producir ataque pulmonar y sistémico idéntico al de la tuberculosis, en especial en individuos con respuestas inmunitarias deficientes. Es sensible a la rifampicina y se le trata con una combinación de ella, etambutol e isoniazida, con respuesta clínica satisfactoria. No se ha precisado el origen de la infección y la transmisibilidad es pequeña o no existe.

Mycobacterium scrofulaceum

Es un escotocromógeno que aparece ocasionalmente en el agua y como saprófito en adultos con alguna neumopatía crónica. Causa linfadenitis cervical crónica en niños y, en raras ocasiones, otras enfermedades granulomatosas. Con la extirpación quirúrgica de los ganglios cervicales infectados se logra a veces la curación, y es frecuente que la micobacteria mencionada sea resistente a los antifímicos. (Guarda semejanza con *Mycobacterium szulgai* y *Mycobacterium xenopi.*)

Mycobacterium marinum y *Mycobacterium ulcerans*

Los dos microorganismos aparecen en el agua, proliferan mejor a bajas temperaturas (31°C), pueden infectar peces y producen lesiones superficiales de la piel (úlceras, o "granulomas de piscinas") en personas. A veces son eficaces la extirpación quirúrgica, las tetraciclinas, la rifampicina y el etambutol.

Complejo de *Mycobacterium fortuitum*

Los componentes del complejo mencionado son saprófitos presentes en la tierra y el agua, que proliferan rápidamente (tres a

seis días) en cultivo, y no forman pigmentos. En raras ocasiones producen enfermedad superficial y sistémica en humanos. Los microorganismos suelen ser resistentes a los antimicobacterianos pero pueden reaccionar a doxiciclina, amikacina, cefoxitina, eritromicina o rifampicina.

Mycobacterium chelonae-abscessus

Los componentes de esta cepa, que crecen rápidamente, deben diferenciarse, porque los tipos y la gravedad de la enfermedad son diferentes y porque son más fáciles las medidas terapéuticas contra ellos, ya que son más susceptibles a los antimicrobianos. Las dos especies son capaces de originar infecciones de piel, partes blandas y huesos después de traumatismo u operaciones, infecciones que se diseminan en los sujetos inmunodeficientes. *M. abscessus* suele identificarse en individuos con enfermedades de vías respiratorias en Estados Unidos, particularmente en regiones del sureste de ese país. Las personas infectadas más a menudo son mujeres no fumadoras, blancas y ancianas. Los individuos con fibrosis quística también están expuestos a dicho peligro y pueden morir por una forma de la enfermedad, de evolución rápida y fulminante. *M. chelonae* en forma típica es susceptible a la tobramicina, claritromicina, linezolida e imipenem. Por lo regular se utilizan para el tratamiento de infección por *M. abscessus* claritromicina, amikacina y cefoxitina, aunque un problema grave con dicho microorganismo es su farmacorresistencia.

Otras especies de *Mycobacterium*

El gran riesgo de infección por micobacterias en sujetos con SIDA ha intensificado la percepción y conciencia de las infecciones por micobacterias, en términos generales. Se han identificado más a menudo especies que habían sido consideradas como curiosidades muy poco comunes (cuadro 23-1). La infección por *Mycobacterium malmoense* se ha informado más bien en el norte de Europa; origina una enfermedad similar a la tuberculosis pulmonar en adultos y linfadenitis en niños. *Mycobacterium haemophilum* y *Mycobacterium genavense* causan enfermedad en sujetos con síndrome de inmunodeficiencia adquirida. No se conoce en detalle la importancia de las dos especies mencionadas.

Saprófitos que no ocasionan enfermedad en personas

Mycobacterium phlei a menudo se detecta en plantas, en tierra o en agua. Es similar a *Mycobacterium gordonae*. *Mycobacterium smegmatis* aparece regularmente en secreciones sebáceas de varones y pudiera ser confundida con microorganismos acidorresistentes patógenos. *Mycobacterium tuberculosis* produce enteritis crónica en el ganado vacuno. Se ha reactivado el interés por dicho microorganismo como posible causa de la enteropatía inflamatoria.

MYCOBACTERIUM LEPRAE

La micobacteria en cuestión fue descrita por Hansen en 1873 (nueve años antes de que Koch descubriera el bacilo de la tuberculosis), pero no se ha podido cultivar en medios bacteriológicos inertes. Causa la lepra y se sabe que existen más de 10 millones de casos de lepra, principalmente en Asia.

En la lepra lepromatosa se identifican regularmente en el raspado de la piel o de las mucosas (en particular en tabique nasal) los típicos bacilos acidorresistentes, únicos, en conjuntos paralelos o en masas globulosas. Por lo regular están dentro de las células del endotelio de vasos sanguíneos o dentro de mononucleares. Cuando se inoculan bacilos de lepra humana (raspado de tejido fundamental de la nariz) en los cojincillos de la pata de los ratones, surgen lesiones granulomatosas locales con multiplicación limitada de bacilos. Los armadillos inoculados terminan por mostrar lepra lepromatosa extensa; en Texas y México se ha observado que tales animales muestran una infección natural de la enfermedad. *M. leprae* de armadillos o de tejido humano contiene como sustancia peculiar *o*-difenoloxidasa, tal vez una enzima característica de los bacilos de tal enfermedad.

Manifestaciones clínicas

La lepra comienza en forma insidiosa y las lesiones aparecen en las zonas más frías del organismo: piel, nervios superficiales, nariz, faringe, laringe, ojos y testículos. Se manifiestan en la forma de máculas pálidas sin sensibilidad (anestésicas) de 1 a 10 cm de diámetro; por nódulos infiltrados, difusos o eritematosos perfectamente definidos de 1 a 5 cm de diámetro o por infiltración difusa de la piel. Las alteraciones neurológicas se manifiestan por infiltración y engrosamiento de nervios, y como consecuencia surgen anestesia, neuritis, parestesias, úlceras tróficas, resorción de hueso y acortamiento de dedos. La desfiguración por la infiltración cutánea y el ataque de nervios en casos no tratados puede ser extrema.

La enfermedad se divide en dos grandes tipos, que son la lepra lepromatosa y la tuberculoide con algunas etapas intermedias. En el primer tipo, la evolución es progresiva y maligna, y hay nódulos en la piel; afectación simétrica y lenta de nervios; abundancia de bacilos acidorresistentes en las lesiones cutáneas; una cutirreacción negativa a la lepromina (extracto de tejido lepromatoso). En la lepra lepromatosa hay notable deficiencia en la inmunidad mediada por células y la piel está infiltrada de linfocitos T supresores. En el tipo tuberculoide la evolución es benigna y no progresiva, con lesiones maculares de la piel, afectación asimétrica intensa de nervios, de comienzo rápido, en las lesiones se detectan escasos bacilos y la cutirreacción con lepromina es positiva. En ese tipo de lepra está intacta la inmunidad mediada por células y la piel está infiltrada de linfocitos T cooperadores.

A veces surgen manifestaciones generales como anemia y linfadenopatía. Frecuentemente hay afección de ojos y en ocasiones surge amiloidosis.

Diagnóstico

Para el diagnóstico se extiende en una laminilla y se tiñe con la técnica de Ziehl-Neelsen el material de raspado obtenido con un bisturí de la piel o de la mucosa nasal, o de un fragmento de la piel del lóbulo de la oreja (para biopsia). En la biopsia de piel o de un nervio engrosado se observa una imagen histológica típica. Ningún procedimiento serológico es útil. Los métodos serológicos no destinados a treponemas (para sífilis) a menudo generan resultados positivos falsos en la lepra.

Tratamiento

Las sulfonas como la dapsona (cap. 28) son fármacos de primera línea que se utilizan contra las lepras tuberculoide y lepromatosa. Por lo común en los regímenes iniciales se incluyen rifampicina o clofazimina. Otros fármacos activos contra *M. leprae* comprenden minociclina, claritromicina y algunas fluoroquinolonas. Los regímenes recomendados por la Organización Mundial de la Salud son prácticos. Se necesitan a veces varios años de tratamiento para tratar de manera adecuada la lepra.

Aspectos epidemiológicos

La transmisión de la lepra se observa cuando se exponen niños de corta edad por lapsos duraderos a personas que expulsan y dispersan abundantes bacilos de la enfermedad. El material infeccioso para contactos en la familia lo constituyen más a menudo las secreciones nasales. El periodo de incubación va de dos a 10 años. Sin medidas profilácticas, en promedio, 10% de los niños expuestos pueden contagiarse de la enfermedad. El tratamiento tiende a disminuir y anular la infecciosidad de los pacientes. Es probable que los armadillos infectados naturalmente de Texas y México no intervengan en la transmisión de la lepra a humanos.

Prevención y erradicación

En Estados Unidos las recomendaciones actuales para evitar la lepra comprenden una exploración minuciosa de los contactos del grupo familiar y parientes cercanos; tal medida debe incluir la revisión completa de la piel y el examen del sistema nervioso periférico. El *US Public Health Service National Hansen's Disease Program* (Programa de Enfermedad de Hansen del Servicio Nacional de Salud Pública) recomienda la profilaxia sistemática con dapsona. En sujetos cuyos signos y síntomas sugieren lepra pero en quienes no se ha hecho el diagnóstico definitivo, pudiera convenir un lapso terapéutico de prueba.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Varón de 60 años de edad con el antecedente en los últimos cinco meses de debilidad progresiva y pérdida ponderal de 13 kg junto con fiebre intermitente, escalofríos, y tos crónica y productiva con esputo amarillo, a veces con estrías de sangre. Se obtuvo una muestra de esputo y en la extensión se identificaron innumerables bacterias acidorresistentes. En el cultivo del esputo se detectó *Mycobacterium tuberculosis.* De los regímenes terapéuticos, ¿cuál es el más adecuado como terapia inicial?
   (A) Isoniazida y rifampicina
   (B) Sulfametoxazol/trimetoprim y estreptomicina
   (C) Isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol
   (D) Isoniazida, cicloserina y ciprofloxacina
   (E) Rifampicina y estreptomicina
2. Si *Mycobacterium tuberculosis* aislada del paciente del primer caso resulta ser resistente a la isoniazida, el mecanismo posible de tal fenómeno depende de
   (A) Lactamasa β
   (B) Mutaciones en el gen de catalasa-peroxidasa
   (C) Alteraciones en la subunidad β de la RNA polimerasa
   (D) Mutaciones en el gen de girasa de DNA
   (E) Mutaciones en los genes que codifican la proteína S12 y el rRNA 16S
3. Mujer de 47 años que acude por primera vez con el antecedente en los últimos tres meses de tos progresiva, adelgazamiento y fiebre. En las radiografías de tórax se observa enfermedad cavitaria bilateral que sugiere tuberculosis. En el cultivo de esputo se identifica la proliferación de un bacilo acidorresistente fotocromógeno (adquiere un color naranja cuando se expone a la luz). El microorganismo muy probablemente es
   (A) *Mycobacterium tuberculosis*
   (B) *Mycobacterium kansasii*
   (C) *Mycobacterium gordonae*
   (D) Complejo de *Mycobacterium avium*
   (E) *Mycobacterium fortuitum*
4. Una mujer asiática de 31 años es hospitalizada después de mostrar durante siete semanas un cuadro cada vez más intenso de malestar general, mialgias, tos no productiva y disnea. Todos los días ha tenido fiebre de 38 a 39°C y recientemente perdió 5 kg de peso. Hace siete años, al internarse en Estados Unidos, no tenía manifestaciones anormales en sus radiografías de tórax. La abuela falleció de tuberculosis cuando ella era una lactante. La radiografía actual de tórax es normal; los resultados de otras pruebas indican disminución del valor hematócrito y anormalidades de las pruebas de función hepática. En la biopsia de hígado y de médula ósea se advierten granulomas con células gigantes y bacilos acidorresistentes. Probablemente la enferma esté infectada de
   (A) *Mycobacterium leprae*
   (B) *Mycobacterium fortuitum*
   (C) *Mycobacterium ulcerans*
   (D) *Mycobacterium gordonae*
   (E) *Mycobacterium tuberculosis*
5. Es de extrema importancia que la mujer del ejemplo anterior sea sometida a estudios en busca de
   (A) VIH/SIDA
   (B) Fiebre tifoidea
   (C) Absceso hepático
   (D) Linfoma
   (E) Paludismo
6. En lo que se refiere a la mujer de la pregunta número 4 (antes), un aspecto de preocupación es que pudiera estar infectada con una micobacteria que es
   (A) Susceptible únicamente a la isoniazida
   (B) Resistente a la estreptomicina
   (C) Resistente a la claritromicina
   (D) Susceptible sólo a ciprofloxacina
   (E) Resistente a la isoniazida y la rifampicina
7. El médico observa a un varón de 40 años que pide limosna en la calle de un poblado de la India. Muestra el cuarto y quinto dedos "en garra" con pérdida de las zonas distales de los dedos de ambas manos, lo cual sugiere netamente lepra. El agente causal del trastorno es
   (A) Susceptible a la isoniazida y la rifampicina
   (B) Prolifera en zonas del cuerpo cuya temperatura es menor de 37°C
   (C) Se puede cultivar en el laboratorio, con medio de Middlebrook 7H11
   (D) Se le identifica en un gran número de biopsias y lesiones de lepra tuberculoide
   (E) Suele infectar personas de Texas, porque los armadillos son hospedadores de *Mycobacterium leprae.*
8. De los planteamientos siguientes en cuanto al derivado proteínico purificado (PPD) y la cutirreacción con tuberculina, ¿cuál es el más acertado?
   (A) Se recomienda practicar cada cinco años cutirreacciones con PPD a todos los estudiantes de medicina y otras ciencias de la salud
   (B) Las personas a quienes se aplicó BCG, en raras ocasiones (si es que así ocurre) muestran conversión a la positividad de cutirreacciones de derivado proteínico purificado

(C) La cutirreacción intradérmica por lo común se "lee" 4 h después de su práctica
(D) La prueba positiva con tuberculina señala que la persona en lo pasado se infectó con *Mycobacterium tuberculosis* y puede seguir portando micobacterias viables
(E) La positividad de una cutirreacción PPD denota si la persona es inmune a tuberculosis activa

9. Mujer de 72 años que tiene una prótesis en la articulación coxofemoral a causa de artropatía degenerativa. Una semana después de la colocación tuvo fiebre y dolor articular. Se hizo exploración de la articulación y se envió el líquido para el cultivo corriente y para la búsqueda de microorganismos acidorresistentes en cultivo. Después de dos días de incubación no hubo proliferación en ninguno de los medios. Sin embargo, después de cuatro días proliferaron bacilos en la placa de agar sangre de cordero y proliferan bacilos acidorresistentes de aspecto similar en el cultivo en busca de bacterias acidorresistentes. Existe la posibilidad de que la persona esté infectada de
(A) *Mycobacterium tuberculosis*
(B) *Mycobacterium fortuitum/chelonae*
(C) *Mycobacterium leprae*
(D) *Mycobacterium kansasii*
(E) Complejo de *Mycobacterium avium*

10. Un niño de 10 años muestra una primoinfección pulmonar con *Mycobacterium tuberculosis.* De las manifestaciones siguientes de tuberculosis, ¿cuál es la más exacta?
(A) En la tuberculosis primaria, surge una lesión exudativa activa que se propaga a muy breve plazo a vasos linfáticos y ganglios linfáticos regionales.
(B) La lesión exudativa de la tuberculosis primaria suele curar lentamente
(C) Si aparece tuberculosis años después, será resultado de otra exposición a *Mycobacterium tuberculosis*
(D) En la tuberculosis primaria, la respuesta inmunitaria del paciente destruye todas las *Mycobacterium tuberculosis* existentes
(E) En la tuberculosis primaria, el sistema inmunitario es estimulado, pero la cutirreacción con PPD sigue siendo negativa hasta la segunda exposición a *Mycobacterium tuberculosis*

11. De los planteamientos siguientes en cuanto al método de liberación de interferón γ, ¿cuál es el más acertado?
(A) Son técnicas útiles para evaluar a sujetos inmunodeficientes, en busca de tuberculosis activa
(B) Detectan antígenos presentes en todas las especies de *Mycobacterium*
(C) No se les practica corrientemente para estudios clínicos en Estados Unidos
(D) Se les practica con sondas moleculares que detectan DNA del microorganismo
(E) Se recurre a ellos en vez de la cutirreacción tuberculínica para valorar la posibilidad de tuberculosis latente

12. ¿Entre qué grupo de individuos *Mycobacterium abscessus* muy a menudo causa enfermedad de pulmones?
(A) Niños de corta edad expuestos a suciedad
(B) Afroestadounidenses fumadores
(C) Mujeres de raza blanca ancianas que no fuman
(D) Varones de extracción hispánica que trabajan al aire libre
(E) Personas que viven en la zona noroccidental de Estados Unidos

13. Una micobacteria, recientemente identificada, de proliferación rápida que ha surgido como causa importante de infecciones en los catéteres venosos centrales es
(A) *Mycobacterium phlei*
(B) *Mycobacterium mucogenicum*
(C) *Mycobacterium xenopi*
(D) *Mycobacterium smegmatis*
(E) *Mycobacterium terrae*

14. La definición de tuberculosis resistente de manera extensa a fármacos (XDR) incluye
(A) Resistencia a la isoniazida
(B) Resistencia a una fluoroquinolona
(C) Resistencia a la capreomicina, amikacina y kanamicina
(D) Resistencia a la rifampicina
(E) Resistencia a todos los fármacos mencionados

15. Todos los microorganismos que se señalaron son micobacterias de proliferación rápida, *excepto:*
(A) *Mycobacterium fortuitum*
(B) *Mycobacterium abscessus*
(C) *Mycobacterium mucogenicum*
(D) *Mycobacterium nonchromogenicum*
(E) *Mycobacterium chelonae*

Respuestas

1. C	5. A	9. B	13. B
2. B	6. E	10. A	14. E
3. B	7. B	11. E	15. D
4. E	8. D	12. C	

BIBLIOGRAFÍA

Brown-Elliott BA, Wallace RJ Jr: Infections due to nontuberculous mycobacteria other than *Mycobacterium avium-intracellulare*. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Fitzgerald D, Sterling TR, Haas DW: *Mycobacterium tuberculosis*. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Gordin FM, Horsburgh CR Jr: *Mycobacterium avium* complex. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Griffith DE et al: An Official ATS/IDSA Statement: Diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. Am J Respir Crit Care Med 2007; 175: 367.

Jassal M, Bishai WR: Extensively drug-resistant tuberculosis. Lancet Infect Dis 2009;9:19-30.

Pfyffer GE: *Mycobacterium*: General characteristics, laboratory detection, isolation, and staining procedures. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Renault CA, Ernst JD: *Mycobacterium leprae*. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Elsevier, 2010.

Vincent V, Gutierrez MC: *Mycobacterium*: Laboratory characteristics of slowly growing mycobacteria. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

C A P Í T U L O

24

Espiroquetas y otros microorganismos espirilares

Las espiroquetas componen un gran grupo heterogéneo de bacterias móviles espirilares. Una familia (Spirochaetaceae) de la orden Spirochaetales consiste en tres géneros de grandes microorganismos espirilares de vida libre. La otra familia (Treponemataceae) incluye tres géneros, cuyos miembros son patógenos para el hombre: 1) treponemas, 2) borrelias y 3) leptospiras.

Las espiroquetas poseen muchas características estructurales en común, como lo ejemplifica *Treponema pallidum* (fig. 24-1). Son bacilos gramnegativos, largos, finos, helicoidales, espirilares o a manera de "sacacorcho". Los bacilos de este orden poseen una **vaina externa** o una cubierta de glucosaminoglucanos. En el interior de la cubierta está la membrana externa que contiene peptidoglucano y que conserva la integridad estructural del microorganismo. Los **endoflagelos** (filamentos axiales) son los organelos a manera de flagelos en el espacio periplásmico, rodeados por la membrana externa. Los endoflagelos comienzan en cada extremo del microorganismo y describen una curva a su alrededor que se extiende hasta un punto medio, y lo cubren. En el interior de los endoflagelos está la membrana interna (citoplásmica) que confiere estabilidad osmótica y cubre el cilindro protoplásmico. Dentro de la célula, cerca de la membrana interna se encuentra una serie de tubos citoplásmicos (fibrillas corporales). Los treponemas se reproducen por fisión transversa.

TREPONEMA

El género *Treponema* incluye la subespecie *pallidum* que causa la sífilis; la subespecie *pertenue* que causa la frambesia; la subespecie *endemicum* que ocasiona la sífilis *endémica* (llamada también bejel); y el *Treponema carateum* que ocasiona el mal del pinto.

TREPONEMA PALLIDUM Y SÍFILIS

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

El microorganismo es una espiral fina que mide 0.2 μm de ancho y 5 a 15 μm de largo, aproximadamente. Las espiras están espaciadas regularmente a una distancia de 1 μm entre sí. Los gérmenes son muy móviles y rotan de manera constante alrededor de sus endoflagelos, incluso después de fijarse a las células en sus extremos ahusados. El eje longitudinal del espirilo por lo común es recto, pero a veces está flexionado de modo que forma un círculo completo en algún momento, y vuelve después a su posición normal recta.

Las espiras son tan finas que no se les identifica con facilidad, salvo que se utilice tinción inmunofluorescente o campo oscuro. No captan de manera adecuada la anilina y otros colorantes, pero se les observa en tejidos si se les tiñe con el método de impregnación argéntica.

B. Cultivo

Como dato curioso, nunca se ha logrado el cultivo de *T. pallidum* patógeno en medios artificiales, huevos fecundados o cultivos de tejido. Es posible cultivar *in vitro*, en medio anaerobio, los

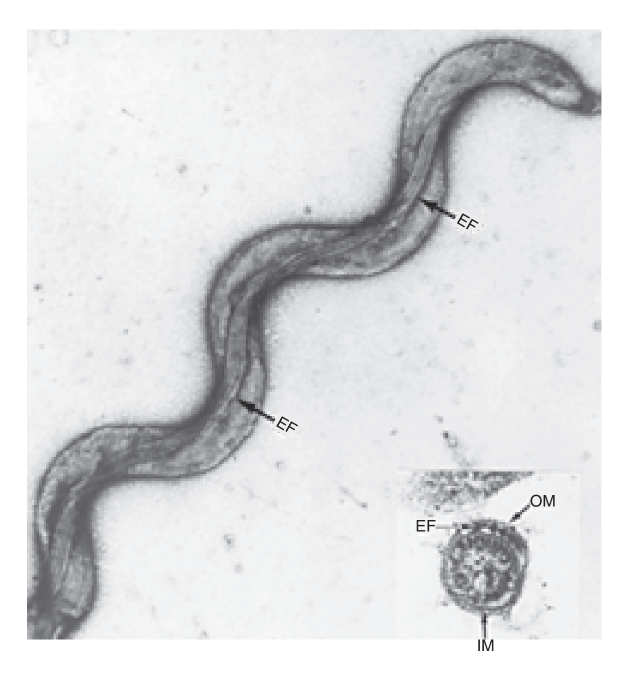


FIGURA 24-1 Micrografía electrónica de *Treponema pallidum,* subespecie *pallidum* en preparación completa. Se identifican fácilmente los endoflagelos. **Recuadro inferior:** micrografía electrónica de *Treponema pallidum*, en corte fino. Se destaca la posición de los endoflagelos (EF) en el espacio periplásmico entre la membrana interna (IM) y la externa (OM). (Por cortesía de EM Walker.)

treponemas no patógenos (como la subespecie de Reiter); son saprófitos con una vinculación antigénica con *T. pallidum*.

C. Características de crecimiento

T. pallidum es un microorganismo microaerófilo y sobrevive mejor en un medio con 1 a 4% de oxígeno. Las subespecies saprófitas de Reiter proliferan en un medio definido que tiene 11 aminoácidos, vitaminas, sales, minerales y albúmina sérica.

T. pallidum en líquidos de suspensión apropiados y en presencia de sustancias reductoras puede conservar su movilidad tres a seis días a 25°C. En sangre completa o plasma almacenado a 4°C los microorganismos siguen siendo viables durante 24 h, como mínimo, y ello adquiere importancia potencial en el caso de las transfusiones de sangre.

D. Reacciones a los agentes físicos y químicos

La sequedad y el incremento de la temperatura a 42°C mata con rapidez a las espiroquetas. Los treponemas son inmovilizados y destruidos a muy breve plazo por arsenicales trivalentes, mercurio y bismuto (contenidos en fármacos antisifilíticos de interés histórico solamente). La penicilina es treponemicida en concentraciones muy pequeñas, pero la destrucción es lenta, tal vez por la inactividad metabólica y la lentitud de multiplicación de *T. pallidum* (el tiempo de división calculado es de 30 h). En la sífilis no se ha demostrado resistencia a dicho antibiótico.

E. Genoma

El genoma de *T. pallidum* es un cromosoma circular que tiene en promedio 1 138 000 pares de bases, lo que es pequeño para una bacteria. Muchas bacterias patógenas tienen elementos que pueden ser transponibles, pero *T. pallidum* no los tiene, lo cual sugiere que se conserva firmemente el genoma y pudiera explicar su susceptibilidad incesante a la penicilina. Son pocos los genes que intervienen en la producción de energía y síntesis de nutrientes, y ello denota que *T. pallidum* los obtiene del hospedador.

Estructura antigénica

El hecho de que sea imposible cultivar *in vitro T. pallidum* ha frenado en grado extraordinario la definición y caracterización de sus antígenos. La membrana externa rodea el espacio periplásmico y el complejo de peptidoglucanos-membrana citoplásmica. Están presentes proteínas de membrana que contienen lípidos con uniones covalentes en sus terminaciones amino. Los lípidos al parecer fijan las proteínas a las membranas citoplásmica o a la externa, y de este modo vuelven inaccesibles las proteínas a los anticuerpos. Los endoflagelos están en el espacio periplásmico. *T. pallidum* subespecie *pallidum* posee hialuronidasa que degrada el ácido hialurónico en la sustancia fundamental del tejido, y posiblemente refuerza la capacidad invasora del treponema. Es imposible diferenciar los perfiles proteínicos de *T. pallidum* (todas las subespecies) y se han identificado más de 100 antígenos proteínicos. Los endoflagelos están compuestos de tres proteínas centrales que muestran homología con otras proteínas de la flagelina bacteriana, y además una proteína de recubierta sin relación alguna. La cardiolipina es un componente importante de los antígenos del treponema.

Los seres humanos con sífilis terminan por generar anticuerpos capaces de "teñir" *T. pallidum* por inmunofluorescencia indirecta, pues inmovilizan y destruyen a *T. pallidum* inmóviles y vivos y fijan complemento en presencia de una suspensión de los microorganismos o de espiroquetas similares. Las espiroquetas también hacen que surja una sustancia precisa similar a anticuerpos que es la reagina, que confiere positividad a las pruebas de fijación de complemento y floculación, con suspensiones acuosas de cardiolipina extraída de tejidos normales de mamíferos. La reagina y el anticuerpo antitreponémico se han utilizado para el diagnóstico serológico de la sífilis.

Patogenia, anatomía patológica y manifestaciones clínicas

A. Sífilis adquirida

La infección natural con *T. pallidum* se limita al hospedador humano y en este caso suele transmitirse por contacto sexual, y la lesión infectante se localiza en la piel y las mucosas de los genitales. Sin embargo, en 10 a 20% de los casos la lesión primaria se localiza en el interior del recto, en el área perianal o en la boca, y puede surgir en cualquier zona corporal. Es probable que *T. pallidum* penetre mucosas intactas o lo hace por una solución de continuidad en la epidermis.

Las espiroquetas se multiplican en el sitio de penetración y algunas proliferan y llegan a ganglios linfáticos vecinos y de ahí a la corriente sanguínea. Dos a 10 semanas después de la infección surge una pápula en el sitio de la infección y por lisis hística se transforma en úlcera con una base limpia y dura ("chancro duro"). La inflamación se caracteriza porque en ella predominan linfocitos y plasmacitos; dicha "lesión primaria" siempre cicatriza de manra espontánea, pero dos a 10 semanas después aparecen las lesiones "secundarias" que consisten en maculopápulas rojas en cualquier zona del cuerpo, incluidas las manos y los pies, y condilomas que son pápulas húmedas pálidas en la región anogenital, las axilas y la boca. También puede haber (todas de origen sifilítico) meningitis, coriorretinitis, hepatitis, nefritis (por complejos inmunitarios) o periostitis. Las lesiones secundarias desaparecen de manera espontánea. En los dos tipos de lesiones abundan las espiroquetas y son muy infectantes. Las lesiones contagiosas pueden reaparecer en término de tres a cinco años de ocurrida la infección, pero después de ese lapso deja de ser infectante el paciente. La infección sifilítica puede asumir un estado subclínico y el paciente pasar en forma asintomática por las dos fases o por ambas, o los signos terminan por aparecer en las lesiones terciarias.

En casi 30% de los casos, la primoinfección sifilítica evoluciona de manera espontánea hasta curar del todo, sin tratamiento. En otro 30%, la infección sin tratamiento permanece latente (se le puede detectar por la positividad de pruebas serológicas). En el resto de los casos la enfermedad evoluciona a la "fase terciaria" que se caracteriza por lesiones granulomatosas (gomas) en la piel, los huesos y el hígado; por cambios degenerativos en el sistema nervioso central (sífilis meningovascular, paresias, tabes) o por lesiones cardiovasculares (aortitis, aneurisma aórtico, insuficiencia de válvula aórtica). En las lesiones terciarias rara vez se detectan treponemas y la respuesta hística demasiado intensa tendría que atribuirse a la hipersensibilidad de los microorganismos. Sin embargo, en ocasiones se detectan treponemas en los ojos, o el sistema nervioso central, en la sífilis tardía.

B. Sífilis congénita

La embarazada sifilítica transmite *T. pallidum* al feto por la placenta, desde la décima a la decimoquinta semanas de la gestación.

Algunos de los fetos infectados mueren y son abortados de manera espontánea en tanto que otros están muertos al nacer (mortinatos). Otros más nacen vivos, pero muestran signos de sífilis congénita en la niñez: queratitis intersticial, dientes de Hutchinson, nariz en silla de montar, periostitis y diversas anomalías del sistema nervioso central. El tratamiento adecuado de la mujer en el embarazo impide la sífilis congénita de su hijo. El título de reagina en la sangre del producto aumenta con la infección activa, pero disminuye con el paso del tiempo si el anticuerpo fue transmitido de manera pasiva, de su madre. En la infección congénita el recién nacido sintetiza un anticuerpo de tipo IgG contra treponemas.

C. Enfermedad experimental

Se puede infectar en forma experimental a los conejos en la piel, los testículos y los ojos, con *T. pallidum* de humanos. En el animal aparece un chancro en que abundan las espiroquetas y dichos microorganismos persisten en los ganglios linfáticos, el bazo y la médula ósea durante toda su vida, aunque no surge la etapa progresiva de la enfermedad.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras incluyen líquido hístico obtenido al exprimir la superficie de las lesiones tempranas, para demostrar en él la presencia de espiroquetas y suero sanguíneo para estudios serológicos.

B. Examen en campo oscuro

Se coloca una gota de líquido o exudado hístico en una laminilla y sobre ella se coloca un cubreobjetos para hacer una capa fina. Después se explora el preparado con un objetivo de inmersión en aceite con iluminación de campo oscuro, para identificar las espiroquetas móviles típicas. Los treponemas desaparecen de las lesiones en término de horas de haber comenzado la antibioticoterapia.

C. Inmunofluorescencia

El líquido o el exudado hístico se extienden en una laminilla, se secan al aire y se envían al laboratorio. En él se fijan y tiñen con suero antitreponémico marcado con fluoresceína y se examinan con un microscopio de inmunofluorescencia en busca de las típicas espiroquetas fluorescentes.

D. Pruebas serológicas para sífilis

Los métodos en cuestión utilizan antígenos no treponémicos o treponémicos.

1. Pruebas no treponémicas. Estas pruebas se utilizan a nivel general para detección en busca de sífilis. Se les practica ampliamente y pueden ser objeto de automatización para facilitar su realización en gran número, y son poco costosas. Además de funcionar como método de detección, también se les utiliza para vigilar la eficacia del tratamiento. Las desventajas de este tipo de pruebas es que no son muy sensibles en la fase temprana de la sífilis y se tornan positivas sólo después de que han transcurrido unas semanas de haber ocurrido la lesión inicial; puede haber resultados positivos falsos por otras enfermedades y también aparecer un fenómeno de prozona, en particular en la sífilis secundaria (el exceso de anticuerpos produce un resultado negativo en diluciones séricas pequeñas, pero positivo en diluciones mayores). Los antígenos en estos métodos contienen cantidades medidas de cardiolipina, colesterol y lecitina purificada, en cantidades suficientes para que surja un grado estandarizado de reactividad. Desde el punto de vista histórico se extraía la cardiolipina del corazón o el hígado de reses, y se le agregaban lecitina y colesterol para reforzar la reacción con anticuerpos sifilíticos “reagínicos”. La reagina es una muestra de anticuerpos de tipo IgM e IgG que reacciona con el complejo de cardiolipina-colesterol-lecitina. Tales métodos se basan en el hecho de que las partículas del antígeno lípido permanecen dispersas en suero normal, pero floculan cuando se combinan con la reagina. Para la práctica de las pruebas VDRL **(Venereal Disease Research Laboratory; Laboratorios de Investigación de Enfermedades Venéreas)** y de **reagina sérica sin calentamiento (USR; unheated serum reagin)**, se necesita el estudio microscópico para detectar floculación. En el método de **reagina plasmática rápida (RPR; rapid plasma reagin)** y del suero no calentado tratado con rojo de toluidina **(TRUST; toluidine red unheated serum test)**, se cuenta con partículas de color que quedan atrapadas dentro de la trama del complejo de antígeno-anticuerpo y así se pueden “interpretar” las pruebas sin la amplificación del microscopio. Los resultados se obtienen en cuestión de minutos, particularmente si se agita la suspensión.

Los métodos no treponémicos generan resultados cuantitativos si se utilizan de manera seriada diluciones al doble. Es posible estimar la cantidad de reagina presente en el suero en forma de título, o de la máxima dilución que genera un resultado positivo. Los resultados cuantitativos son útiles para corroborar el diagnóstico y valorar el efecto del tratamiento. La positividad de los métodos no treponémicos surge después de dos a tres semanas en el caso de sífilis no tratada, y ello denota un título alto en la sífilis secundaria. La positividad de estos métodos en forma típica cambia a negatividad a menudo en un lapso de seis a 18 meses, y por lo común a los tres años después del tratamiento eficaz de la sífilis. La prueba no treponémica positiva después de tratar la sífilis sugiere que el tratamiento no fue eficaz, o hubo reinfección.

El método VDRL se ha estandarizado para aplicarlo al líquido cefalorraquídeo (LCR), y cambia a positivo en la neurosífilis. Los anticuerpos reagínicos por lo común no llegan a dicho líquido desde la sangre, sino que probablemente se forman en el sistema nervioso central en reacción a la infección sifilítica. El diagnóstico serológico de neurosífilis es complejo.

2. Métodos con anticuerpos treponémicos. Los métodos de esta categoría miden anticuerpos contra antígenos de *T. pallidum*. Se utilizan para saber si un resultado positivo obtenido de un método no treponémico realmente lo es, o es falso. El resultado positivo de un método treponémico en una muestra de suero que también genera positividad con un método no treponémico es un signo importante de que existe infección por *T. pallidum*. Los métodos treponémicos son menos útiles en la detección porque una vez que son positivos después de la primoinfección sifilítica siguen siendo positivos durante toda la vida, independientemente del tratamiento antisifilítico. En los métodos treponémicos no se practican diluciones seriadas de suero y los resultados se notifican como reactivos o no reactivos (o a veces no concluyentes). Los métodos de anticuerpos treponémicos tienden a ser más caros que los no treponémicos, aspecto importante en la detección en grandes grupos de personas (como donantes de sangre).

Es posible que el método treponémico más utilizado en Estados Unidos sea el de **aglutinación de partículas de *T. pallidum* (TP-PA, *T. pallidum*-particle agglutination)** en el cual se agregan a una dilución estándar de suero partículas de gelatina sensibilizadas con antígenos de *T. pallidum* subespecie *pallidum.* Cuando los anticuerpos contra *T. pallidum* reaccionan con las partículas sensibilizadas se forma un conjunto de partículas aglutinadas en el cuenco del equipo de microdilución. Las partículas de gelatina que no están sensibilizadas se prueban con suero diluido para descartar aglutinación inespecífica.

Las pruebas de **hemaglutinación de *T. pallidum* (TPHA, *T. pallidum* hemagglutination)** y de **microhemaglutinación de *T. pallidum* (MHA-TP, microhemagglutination *T. pallidum*)** se basan en los mismos principios que TP-PA, pero utilizan eritrocitos de carnero en vez de partículas de gelatina y fácilmente presentan aglutinación inespecífica.

Se practican métodos múltiples relativamente similares que usan anticuerpos treponémicos, y uno de ellos es **EIA para *T. pallidum*** (formato de enzimoinmunoanálisis); en ellos se utilizan antígenos obtenidos por tratamiento ultrasonoro de *T. pallidum* o antígenos recombinantes (obtenidos por ingeniería genética). Se agrega una porción alícuota de suero con dilución estándar a un cuenco sensibilizado de un equipo de microdilución. Después de lavado, de añadir un conjugado marcado con enzimas y nuevo lavado, se agrega un nuevo sustrato precursor. El cambio de color denota que el suero es reactivo.

El **método de absorción de anticuerpos treponémicos fluorescentes (FTA-ABS; fluorescent treponemal antibody absorbed)** es el estudio con anticuerpos treponémicos utilizado desde hace muchos años. Es difícil de realizar y por ello se practica sólo en circunstancias escogidas. Utiliza inmunofluorescencia indirecta para detectar anticuerpos reactivos: la técnica incluye *T. pallidum* muertos, suero del enfermo al que se absorben espiroquetas de Reiter saprófitas tratadas por ultrasonido, y a todo ello se agrega globulina γ antihumana marcada con un compuesto fluorescente. La presencia del anticuerpo treponémico fluorescente de tipo IgM en la sangre de los recién nacidos es prueba fehaciente de infección en el interior del útero (sífilis congénita). La negatividad de dicha prueba en el líquido cefalorraquídeo tiende a descartar la presencia de neurosífilis, pero a veces surge la positividad en dicho líquido por transferencia de anticuerpos del suero, y no es útil en el diagnóstico de dicha entidad.

Inmunidad

La persona con sífilis o frambesia activas o latentes al parecer es resistente a la sobreinfección por *T. pallidum*. Sin embargo, si son tratadas de manera adecuada las dos enfermedades en su fase temprana y se erradica la infección, el individuo se torna totalmente susceptible. Las diversas respuestas inmunitarias no permiten erradicar la infección ni detener su evolución.

Tratamiento

La penicilina en concentraciones de 0.003 U/ml posee una actividad treponemicida neta y constituye el fármaco de elección. La sífilis que ha durado menos de un año se trata con una sola inyección intramuscular de penicilina G benzatínica. En el caso de sífilis de mayor duración (antigua) o latente, se instaura el mismo tratamiento por la misma vía tres veces por semana, a intervalos semanales. En casos de neurosífilis es aceptable el mismo tratamiento, pero a veces se recomienda utilizar dosis mayores de penicilina intravenosa. A veces se le sustituye por otros antibióticos como tetraciclinas o eritromicina. Se piensa que el tratamiento de la gonorrea cura la sífilis en fase de incubación. Es necesaria la vigilancia a largo plazo. En la neurosífilis a veces viven treponemas después de dicho tratamiento. En sujetos con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) infectados por VIH y *T. pallidum* surgen graves recidivas neurológicas de la sífilis tratada. En término de horas de haber comenzado el tratamiento puede surgir la reacción típica de Jarisch-Herxheimer causada por la liberación de productos tóxicos de espiroquetas desvitalizadas o muertas.

Epidemiología, prevención y control

Con excepción de la sífilis congénita y la rara exposición ocupacional del personal médico, la sífilis se contagia por exposición sexual. Es frecuente la reinfección en sujetos tratados. La persona infectada puede ser contagiosa tres a cinco años durante la sífilis "temprana", y la forma "tardía" que ha durado más de cinco años por lo común no es contagiosa. En consecuencia, las medidas de control dependen de: 1) tratamiento inmediato y adecuado de todos los casos identificados; 2) vigilancia de las fuentes de infección y los contactos para ser sometidos a tratamiento, 3) sexo seguro con preservativos. En ocasiones se contagian en forma simultánea varias enfermedades de transmisión sexual y por tal razón es importante pensar en la posibilidad de sífilis cuando se haya identificado cualquier enfermedad de esa índole.

ENFERMEDADES SIMILARES A LA SÍFILIS

Estas enfermedades son causadas por treponemas muy similares a *T. pallidum*; generan resultados positivos en las pruebas serológicas treponémicas y no treponémicas de sífilis (STS, *serologic tests for syphilis*) y es posible demostrar inmunidad cruzada en animales de experimentación y posiblemente en seres humanos. Ninguna de ellas se transmite por contacto sexual, sino que esta situación ocurre por contacto directo. No se han cultivado en medios artificiales algunos de los microorganismos causales.

Bejel

El bejel (causado por *T. pallidum* subespecie *endemicum*) aparece principalmente en África, pero también en el Medio Oriente, en el sureste asiático y otras zonas, en especial entre niños, y ocasiona lesiones cutáneas muy infectantes; las complicaciones viscerales tardías son raras. El fármaco más indicado es la penicilina.

Frambesia

La frambesia es una enfermedad endémica en particular en niños en muchos países tropicales húmedos y cálidos. Es causada por *T. pallidum* subespecie *pertenue*. La lesión primaria, que es una pápula ulcerada, aparece por lo común en brazos y piernas. La transmisión se hace por contacto interpersonal en niños menores de 15 años. No se observa infección congénita transplacentaria. Es frecuente que las lesiones cutáneas formen cicatrices y haya destrucción de hueso, pero son muy raras las complicaciones viscerales o del sistema nervioso. No hay consenso en cuanto a si la frambesia representa una variante de sífilis adaptada, con transmisión por mecanismos no sexuales en climas cálidos. Al parecer surge inmunidad cruzada entre la frambesia y la

sífilis. Los métodos diagnósticos y el tratamiento son similares a los que se siguen en la sífilis y es impresionante la respuesta al tratamiento con penicilina.

Mal del pinto

El mal del pinto (pinta o carate) es causado por *T. carateum* y es endémico en todos los grupos de edad en México, América Central y del Sur, Filipinas y algunas áreas del Pacífico. Al parecer la enfermedad predomina en razas de piel oscura. La lesión primaria, que es una pápula no ulcerosa, aparece en zonas expuestas a la luz solar. Algunos meses después se manifiestan en la piel las lesiones aplanadas e hiperpigmentadas, y años después hay despigmentación e hiperqueratosis. En muy contadas ocasiones hay ataque tardío del aparato cardiovascular y del sistema nervioso. El mal del pinto se transmite en forma no sexual, por contacto directo, o con la participación de moscas o jejenes. El diagnóstico y el tratamiento son iguales a los que se siguen en la sífilis.

BORRELIA

ESPECIES DE *BORRELIA* Y BORRELIOSIS

La fiebre recurrente (borreliosis) en su forma epidémica es causada por *Borrelia recurrentis*, transmitida por el piojo del cuerpo del hombre y no se observa en Estados Unidos. La borreliosis endémica es causada por las borrelias transmitidas por garrapatas del género *Ornithodoros*. El nombre de especie del género *Borrelia* suele ser igual al de la garrapata. Por ejemplo, *Borrelia hermsii*, que es causa de la borreliosis en la zona occidental en Estados Unidos se transmite por *Ornithodoros hermsii*.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las borrelias forman espirales irregulares de 10 a 30 μm de largo y 0.3 μm de ancho. La distancia entre una y otra espira varía de 2 a 4 μm. Los microorganismos son muy flexibles y se desplazan por flotación y por "giros". Las borrelias captan fácilmente colorantes bacteriológicos y también colorantes como Giemsa y Wright (fig. 24-2).

B. Cultivo

Es posible cultivar el microorganismo en medios líquidos que contengan sangre, suero o tejidos, pero pierde rápidamente su carácter patógeno en animales si es transferido repetidamente *in vitro*. La multiplicación es rápida en embriones de pollo cuando se inocula la sangre de pacientes a la membrana corioalantoidea.

C. Características de crecimiento

Son pocos los datos sobre las necesidades metabólicas o la actividad de las borrelias. A 4°C viven varios meses en sangre infectada o en cultivo. En algunas garrapatas (pero no en los piojos), las espiroquetas pasan de una generación a otra.

D. Variaciones

La única variación importante de *Borrelia* es en su estructura antigénica.

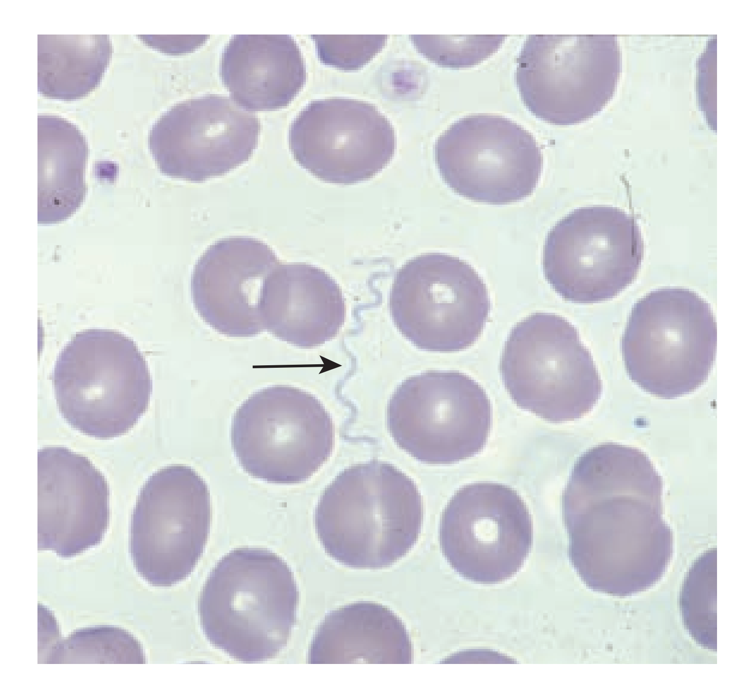


FIGURA 24-2 *Borrelia* (*flecha*) en un frotis de sangre periférica de un paciente con borreliosis. Amplificación original ×1 000.

Estructura antigénica

Después de la infección por borrelias surgen anticuerpos en título alto. La estructura antigénica de los microorganismos cambia en el curso de una infección aislada. Los anticuerpos producidos inicialmente actúan como un factor selectivo que permite la supervivencia únicamente de variantes "distintas" o peculiares desde el punto de vista antigénico. La evolución recidivante de la enfermedad al parecer proviene de la multiplicación de las variantes antigénicas, situación en la cual el hospedador debe sintetizar nuevos anticuerpos. La recuperación definitiva (después de tres a 10 recidivas) depende de la presencia de anticuerpos contra algunas de las variantes antigénicas.

Histopatología

En los enfermos que fallecen se identifican espiroquetas en gran número en el bazo y el hígado, focos necróticos en otros órganos parenquimatosos y lesiones hemorrágicas en los riñones y el tubo digestivo. En ocasiones se ha demostrado la presencia de espiroquetas en el líquido cefalorraquídeo y en el cerebro de personas que han tenido meningitis. En animales de experimentación (cobayos, ratas) el cerebro puede actuar como "depósito" (reservorio) de borrelias después de que desaparecieron de la sangre.

Patogenia y manifestaciones clínicas

El periodo de incubación es de tres a 10 días. El comienzo de la enfermedad es repentino, con escalofríos e hipertermia súbita. En ese lapso hay abundantes espiroquetas en la sangre. La fiebre persiste por tres a cinco días para disminuir, y la persona queda debilitada, pero no enferma. El periodo afebril dura cuatro a 10 días y después hay un segundo ataque de escalofríos, fiebre, cefalea intensa y malestar general. Se suceden tres a 10 de las recidivas mencionadas, cada vez de menor intensidad. En las etapas febriles (en particular cuando aumenta la temperatura), están

presentes los microorganismos en la sangre, en tanto que no lo están en los periodos afebriles.

En la fase febril aparecen anticuerpos contra las espiroquetas y el ataque probablemente termina gracias a sus efectos aglutinantes y líticos. Tales anticuerpos pueden "seleccionar" desde el punto de vista antigénico variantes particulares que se multiplican y originan la recidiva. Es posible aislar de un solo enfermo en sus recidivas seriadas, variedades antigénicas particulares de borrelias, incluso después de inoculación experimental con un solo microorganismo.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras de sangre se obtienen durante la fase de incremento de la fiebre, para extensiones e inoculación en animales.

B. Frotis

En los frotis de sangre fina o gruesa teñidos con colorantes de Wright o Giemsa se identifican grandes espiroquetas con espiras amplias, entre los eritrocitos.

C. Inoculación en animales

La inoculación de ratones blancos o ratas de poca edad se hace por vía intraperitoneal, con sangre. Dos a cuatro días después se estudian extensiones teñidas de la sangre de la cola, en busca de espiroquetas.

D. Serología

Las espiroquetas obtenidas en cultivos pueden servir de antígenos para pruebas en líquido cefalorraquídeo, pero es difícil la preparación de antígenos satisfactorios. Los sujetos que presentan la borreliosis epidémica (transmitida por piojos) pueden mostrar positividad de VDRL.

Inmunidad

La inmunidad después de la infección suele durar poco tiempo.

Tratamiento

La enorme variabilidad de las remisiones espontáneas de la borreliosis dificulta la valoración de la eficacia quimioterápica. Según se piensa, son eficaces tetraciclinas, eritromicina y penicilina. El tratamiento para un solo día puede bastar para tratar un ataque individual.

Epidemiología, prevención y control

La borreliosis o fiebre recidivante es endémica en muchas zonas del mundo. Su reservorio principal lo constituye la población de roedores, que sirve de fuente de infección de las garrapatas del género *Ornithodoros*. La distribución de los focos endémicos y la incidencia estacional de la enfermedad dependen en gran medida de las características ecológicas de las garrapatas en áreas diferentes. En Estados Unidos estos artrópodos infectados se detectan en todo el oeste, en especial en zonas montañosas, pero los casos clínicos son raros. En la garrapata, la *Borrelia* puede transmitirse por un mecanismo transovárico, de una generación a la siguiente.

Las espiroquetas aparecen en todos los tejidos de la garrapata y pueden ser transmitidas por la picadura o al triturar al artrópodo. La enfermedad transmitida por garrapatas no es epidémica. Sin embargo, si la persona infectada tiene piojos, éstos se infectan al chupar sangre; tres a cuatro días pueden constituir una fuente de infección de otras personas. La infección de los piojos no se transmite a la generación siguiente y la enfermedad es resultado de triturar y frotar el artrópodo en la herida causada al picar. En las poblaciones infectadas por piojos pueden surgir epidemias graves y la transmisión se facilita por factores como el apiñamiento, la malnutrición y el clima frío.

En zonas endémicas a veces la infección de seres humanos es consecuencia del contacto con la sangre y los tejidos de roedores infectados. La cifra de mortalidad de la enfermedad endémica es pequeña, pero en las epidemias puede llegar a 30%.

La prevención se basa en evitar la exposición a las garrapatas y los piojos y en las medidas de despiojamiento (limpieza y uso de insecticidas).

BORRELIA BURGDORFERI Y ENFERMEDAD DE LYME

La enfermedad de Lyme recibió su nombre de Lyme, un poblado de Connecticut en que se identificaron grupos de casos en niños. Es causada por la espiroqueta *B. burgdorferi* y transmitida a los humanos por la picadura de una garrapata del género *Ixodes*. La enfermedad muestra manifestaciones tempranas, que incluyen una lesión cutánea característica, el **eritema migratorio**, junto con síntomas similares al resfriado, y manifestaciones tardías, a menudo artralgias y artritis.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

B. burgdorferi es un microorganismo espiroideo de 20 a 30 μm de largo y 0.2 a 0.3 μm de ancho. La distancia entre una y otra espiras varía de 2 a 4 μm. Los microorganismos tienen un número variable (7 a 11) de endoflagelos, muy móviles. *B. burgdorferi* capta fácilmente los colorantes ácidos o anilinas y es visible con la impregnación argéntica.

B. Características del cultivo y crecimiento

B. burgdorferi prolifera muy fácilmente en medios líquidos complejos como el de Barbour-Stoenner-Kelly (BSK II; *Barbour-Stoenner-Kelly medium*). A este medio se pueden agregar rifampicina, fosfomicina (fosfonomicina) y anfotericina B, para disminuir el índice de contaminación del cultivo por otras bacterias y hongos. Se aísla con mucha facilidad el microorganismo de las lesiones cutáneas de eritema migratorio, y es difícil detectarlo en otros sitios. También se le puede obtener en cultivo de garrapatas. El cultivo es un método complejo y especializado con un índice pequeño de confirmación diagnóstica y por ello se le utiliza poco.

Estructura y variación antigénica

B. burgdorferi tiene un aspecto similar al de otras espiroquetas. Se ha logrado conocer la secuencia de todo el genoma de dicho microorganismo y ello ha permitido anticipar sus innumerables

estructuras antigénicas. Posee un cromosoma lineal poco común de unas 950 kb y múltiples plásmidos circulares y lineales. También hay un gran número de secuencias de lipoproteínas que incluyen las proteínas OspA-F en la superficie externa. Según expertos, la expresión diferencial de dichas proteínas permite a *B. burgdorferi* vivir en hospedadores muy diferentes como garrapatas y mamíferos. OspA y OspB, junto con la lipoproteína 6.6 son expresados de manera predominante en la garrapata. Hay aumento en el número de proteínas de la superficie externa durante la fase de alimentación, en que los microorganismos migran del intestino medio a la glándula salival de la garrapata; ello pudiera explicar el hecho de que la garrapata debe alimentarse 24 a 48 h antes de transmitir *B. burgdorferi*.

Patogenia y manifestaciones clínicas

B. burgdorferi es transmitido a los seres humanos al ser inyectado el microorganismo en la saliva de la garrapata o cuando ésta regurgita su contenido del abdomen medio. El microorganismo se adhiere a los proteoglucanos en las células del hospedador, situación mediada por un receptor de glucosaminoglucano que poseen las borrelias. Una vez que la garrapata deposita forzadamente el microorganismo, éste migra del sitio y produce la característica lesión cutánea. La diseminación se hace por los linfáticos o la sangre a otros sitios de la piel y el sistema musculoesquelético y otros órganos más.

La enfermedad de Lyme, a semejanza de otras espiroquetosis, aparece en fases y tiene manifestaciones tempranas y tardías. Tres a cuatro semanas después de la picadura de la garrapata la lesión cutánea peculiar define a la etapa 1; la lesión llamada eritema migratorio comienza como un área plana y enrojecida cerca de la picadura y poco a poco se expande, aunque su centro se decolora. Con la lesión cutánea coexiste un cuadro similar al de un resfriado, que comprende fiebre, escalofríos, mialgias y cefaleas. La segunda etapa aparece semanas o meses después e incluye artralgia y artritis; manifestaciones neurológicas como meningitis, parálisis del nervio facial y radiculopatía dolorosa, y trastornos del corazón con defectos de la conducción y miopericarditis. La tercera etapa comienza meses o años después, en que hay ataque crónico de la piel, del sistema nervioso o de las articulaciones. Se han aislado espiroquetas de todos los sitios mencionados y es posible que algunas de las manifestaciones tardías sean causadas por el depósito de complejos antígeno-anticuerpo.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

En algunos enfermos sintomáticos se puede corroborar sobre bases clínicas el diagnóstico de la fase inicial de la enfermedad de Lyme al detectar la lesión cutánea peculiar, pero si no está presente deben practicarse pruebas diagnósticas de laboratorio y también en etapas ulteriores de la enfermedad, en que debe ser diferenciada de muchas otras. Sin embargo, no existe método alguno que sea sensible y específico.

A. Muestras

Se obtiene sangre para estudios serológicos y también se puede obtener líquido cefalorraquídeo o sinovial, pero no se recomienda cultivarlos. Las muestras mencionadas y otras pueden utilizarse para detectar DNA de *B. burgdorferi* por la reacción en cadena de polimerasa.

B. Frotis

Se ha identificado a *B. burgdorferi* en cortes de muestras de biopsia, pero el examen de frotis teñidos constituye un método que no es sensible para el diagnóstico de la enfermedad de Lyme. En ocasiones se identifica *B. burgdorferi* por medio de anticuerpos y métodos inmunohistoquímicos.

C. Cultivo

Por lo común no se practica el cultivo, porque se necesita el transcurso de seis a ocho semanas para completarlo y no posee sensibilidad.

D. Sondas moleculares

La reacción en cadena de polimerasa se aplica para la detección del DNA del *B. burgdorferi* en muchos líquidos corporales. En una técnica rápida, sensible y específica, pero no permite diferenciar entre el DNA del microorganismo vivo en la etapa activa de la enfermedad, y el DNA del microorganismo muerto, en la enfermedad tratada o inactiva. Posee una sensibilidad cercana a 85% cuando se aplica a muestras del líquido sinovial, sensibilidad que es mucho menor si se utilizan muestras de LCR en individuos con neuroborreliosis.

E. Serología

Los métodos de este tipo han sido el elemento fundamental para el diagnóstico de enfermedad de Lyme, pero pueden ser seropositivos en EIA inicial o en métodos de anticuerpos fluorescentes indirectos (IFA, *indirect fluorescent antibody assay*), en 3 a 5% de personas normales, y en las que tienen otras enfermedades (como artritis reumatoide y muchas enfermedades infecciosas). Si la prevalencia de la enfermedad de Lyme es pequeña, como ocurre en muchas zonas geográficas, existe una posibilidad mucho mayor de que surja una reacción positiva en un persona que no tiene la enfermedad, en comparación con la persona que la tiene (valor predictivo positivo menor de 10%). Por tal razón, es importante realizar el estudio serológico en busca de enfermedad de Lyme sólo si las manifestaciones clínicas son fuertemente sugestivas. El diagnóstico no debe basarse en la positividad de pruebas EIA e IFA, en ausencia de datos clínicos sugerentes. Se recomienda una estrategia bipartita en el serodiagnóstico, es decir, practicar EIA o IFA y después un método de inmunotransferencia para medir la reactividad con antígenos específicos de *B. burgdorferi*.

Los métodos iniciales más utilizados para detectar enfermedad de Lyme son EIA e IFA. En el comercio se dispone de múltiples variantes de tales técnicas, que utilizan preparados de antígenos diferentes, técnicas y puntos finales distintos. Por lo común, los resultados de las pruebas iniciales son señalados en las categorías positiva, negativa o indeterminada.

El método de inmunotransferencia por lo común se realiza para confirmar los resultados obtenidos con la técnica EIA. Los antígenos de *B. burgdorferi* obtenidos por técnicas de ingeniería genética (recombinantes) o los antígenos de células completas preparadas por lisis, son separados por medio de electroforesis, transferidos a una membrana de microcelulosa y colocados para reaccionar con el suero del enfermo. La interpretación de la inmunotransferencia se basa en el número y tamaño molecular de las reacciones de anticuerpos con las proteínas de *B. burgdorferi*. Es posible analizar las técnicas de inmunotransferencia en busca de IgG o IgM. Las características de las bandas de antígenos-

anticuerpos en las técnicas de inmunotransferencia deben interpretarse por medio del cotejo con los resultados sabidos de pacientes en diversas fases de la borreliosis de Lyme, y es importante tener mucho cuidado para evitar la interpretación excesiva de "manchas" con reactividad mínima.

Inmunidad

La respuesta inmunológica a *B. burgdorferi* evoluciona en forma lenta. Los sueros obtenidos en la primera etapa muestran positividad en 20 a 50% de los pacientes; los obtenidos en la segunda fase son positivos en 70 a 90%, con la identificación de IgG e IgM reactivos; en la infección de vieja fecha predomina IgG. En la tercera etapa cerca de 100% de los enfermos tienen IgG reactiva en caso de haber *B. burgdorferi*. La respuesta de anticuerpos se expande meses a años, y al parecer muestra una tendencia "seriada" contra una sucesión de proteínas de *B. burgdorferi*. El tratamiento antimicrobiano temprano disminuye la respuesta de anticuerpos. Los títulos de anticuerpos disminuyen lentamente después del tratamiento, pero muchos pacientes con manifestaciones ulteriores de la enfermedad de Lyme muestran seropositividad durante años.

Tratamiento

Es importante tratar con doxiciclina o amoxicilina (u otro fármaco) durante 14 a 21 días la infección temprana, local o diseminada. El tratamiento alivia los síntomas iniciales y facilita la resolución de las lesiones cutáneas. La doxiciclina puede ser más eficaz que la amoxicilina para evitar las manifestaciones tardías. La artritis "establecida" puede mejorar con la administración duradera de doxiciclina o amoxicilina ingeridas o penicilina G o ceftriaxona por vía endovenosa. En casos resistentes, la ceftriaxona ha sido eficaz. Prácticamente la mitad de los enfermos tratados con doxiciclina o amoxicilina en los comienzos de la enfermedad de Lyme termina por mostrar complicaciones tardías menores (cefaleas, artralgias y otras más).

Epidemiología, prevención y control

B. burgdorferi se transmite por una garrapata pequeña del género *Ixodes*. El vector es *Ixodes scapularis* (llamada también *Ixodes dammini*) en las zonas noreste y del medio este, e *Ixodes pacificus* en la costa occidental de Estados Unidos. En Europa, la vectora es *Ixodes ricinus* y otras garrapatas vectoras al parecer son importantes en diversas zonas del mundo. Las garrapatas *Ixodes* son muy pequeñas y a veces el enfermo no se percata del momento en que se alimentan a través de la piel. Las larvas miden en promedio 1 mm; las ninfas tienen el tamaño de una semilla de amapola o un fragmento de pimienta triturada (unos 2 mm), y la hembra adulta, 3 a 4 mm. Todas las etapas son más pequeñas de la mitad o más de fases similares observadas con la garrapata *Dermacentor variabilis* del perro. Según la fase del desarrollo y la especie de *Ixodes,* las garrapatas deben extraer su alimento durante 2 a 4 días para obtener la sangre que necesitan. La transmisión de *B. burgdorferi* ocurre en fase tardía del proceso de alimentación. Los ratones y los venados constituyen los principales animales de "depósito" o reservorios de *B. burgdorferi*, pero otros roedores y aves también pueden tener la infección. En la zona oriental de Estados Unidos, 10 a 50% de las garrapatas están infectadas, en tanto que en los estados del occidente la cifra de infección en tales artrópodos es mucho menor, y es, en promedio, de 2%.

Gran parte de las exposiciones y contactos se producen de mayo a julio, en que la etapa de ninfa de las garrapatas muestra su mayor actividad; sin embargo, también las garrapatas en la fase larvaria (agosto y septiembre) y en la fase adulta (primavera y otoño) se alimentan de humanos y transmiten el microorganismo patógeno.

La prevención se basa en evitar la exposición a las garrapatas y se recomienda utilizar ropa con mangas largas y pantalones largos, "metidos" dentro de los calcetines. La revisión cuidadosa de la piel en busca de las garrapatas (después de estar la persona a campo abierto) puede localizarlas para extirparlas antes de que transmitan *B. burgdorferi*.

La erradicación de las garrapatas en el entorno por la aplicación de insecticidas ha tenido resultados modestos para disminuir el número de ellas en etapa de ninfa, en una estación del año.

LEPTOSPIRA Y LEPTOSPIROSIS

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial. Es causada por espiroquetas del género *Leptospira*. El sistema tradicional de clasificación se basó en la especificidad bioquímica y serológica para diferenciar entre especies patógenas, *Leptospira interrogans* y la especie no patógena de vida libre *Leptospira biflexa*. La especie se ha subdividido en más de 200 variedades serológicas de *L. interrogans* y más de 60 variedades serológicas de *L. biflexa*. Las serovariedades se han organizado en serogrupos de *L. interrogans* y serogrupos de *L. biflexa*. Los serogrupos se basan en la antigenicidad compartida y se utilizan más bien en los laboratorios.

El segundo sistema de clasificación se basa en estudios de hibridación, en los cuales se ha demostrado un alto grado de heterogeneidad dentro de las dos especies de la clasificación tradicional. La clasificación molecular de las leptospiras se practica por la técnica de secuencias del rRNA 16S. El análisis filogenético de tales secuencias señala que existen tres clados de leptospiras: patógenas, saprófitas y algunas de patogenicidad incierta. Las especies no guardan correspondencia con las de la clasificación tradicional. Por esa razón, algunas serovariedades de la clasificación tradicional aparecen en múltiples especies en la clasificación molecular y la clasificación serológica no puede utilizarse para predecir la clasificación molecular.

Los comentarios siguientes se basan en la clasificación serológica tradicional.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las leptospiras son espiroquetas finas, flexibles, con espiras muy cerradas, de 5 a 15 μm de largo, y espirales finísimas de 0.1 a 0.2 μm de ancho; uno de los extremos suele ser angulado y forma una especie de gancho. Muestran movilidad activa que se advierte mejor en la microscopia de campo oscuro. En las micrografías electrónicas se identifica un fino filamento axil y una membrana delicada. La espiroqueta es tan delicada que en la imagen de campo oscuro aparecerá sólo como una cadena de pequeñísimos cocos. No capta fácilmente los colorantes, aunque puede ser impregnada con plata.

B. Cultivo

Las leptospiras proliferan mejor en una situación aeróbica a 28 a 30°C en un medio semisólido (EMJH y otros) en tubos de ensayo de 10 ml con agar al 0.1% y 5-fluorouracilo. Véase adelante Pruebas diagnósticas de laboratorio. Después de una a dos semanas las leptospiras producen una zona difusa de proliferación cerca de la porción superior del tubo y más tarde un anillo de crecimiento al nivel del tubo que corresponde al nivel de la tensión óptima de oxígeno para los microorganismos.

C. Factores necesarios para el crecimiento

Las leptospiras obtienen energía de la oxidación de ácidos grasos de cadena larga y no aprovechan los aminoácidos o los carbohidratos como fuentes principales de energía. Las sales de amonio constituyen la fuente principal de nitrógeno. Los microorganismos sobreviven semanas en el agua, en particular si tienen pH alcalino.

Estructura antigénica

Las cepas principales ("serovariedades") de *L. interrogans* aisladas de seres humanos o animales en partes diferentes del mundo (cuadro 24-1) muestran parentesco serológico y también reactividad cruzada en los métodos serológicos; ello denota que existe notable "traslape" o puntos comunes de su estructura antigénica y se necesitan métodos cuantitativos y estudios de absorción de anticuerpos para llegar al diagnóstico serológico específico. La cubierta externa contiene cantidades grandes de lipopolisacáridos de estructura antigénica, que varían de una cepa a otra; dicha variación constituye la base de la clasificación serológica de las especies de *Leptospira*; también es el elemento que rige la especificidad en la respuesta inmunitaria del humano a las leptospiras.

Patogenia y manifestaciones clínicas

Las leptospiras suelen producir infección en los seres humanos, a menudo en cúmulos de agua, pues penetran en el cuerpo por soluciones de continuidad de la piel (cortaduras y abrasiones) y de las mucosas (de la boca, la nariz y las conjuntivas). Se considera que la ingestión asume menor importancia. Después de un periodo de incubación de una a dos semanas surge en forma variable fiebre, durante la cual aparecen las espiroquetas en la corriente sanguínea. En esta situación se "establecen" en órganos parenquimatosos (en particular hígado y riñones) y en ellos producen hemorragia y necrosis hística, lo cual ocasiona la disfunción de ellos (ictericia, hemorragia y retención de nitrógeno). La enfermedad suele tener dos fases. Después de la mejoría inicial surge la segunda fase en la cual aumenta el título de anticuerpos de tipo IgM. Se manifiesta por sí misma en forma de "meningitis aséptica" en que hay cefalea intensa, rigidez de cuello y pleocitosis en el líquido cefalorraquídeo. También pueden reaparecer la nefritis y la hepatitis y haber lesiones de piel, músculos y ojos. El grado y la distribución del ataque de órganos varía en las diferentes enfermedades que producen las leptospiras distintas, en diversas zonas del mundo (cuadro 24-1). Muchas infecciones son poco intensas o subclínicas. La hepatitis es frecuente en individuos con leptospirosis.

La afección de los riñones en muchas especies animales es crónica y consecuencia de la expulsión de gran número de leptospiras en la orina; probablemente ello sea el origen de la contaminación ambiental que origina infección de los seres humanos. La orina de humanos también puede contener espiroquetas, en la segunda y la tercera semanas de la enfermedad.

Durante la infección aparecen anticuerpos aglutinantes, fijadores de complemento, y líticos. El suero de convalecientes protege a animales de experimentación contra una infección que en otras circunstancias sería mortal. La inmunidad que es

CUADRO 24-1 Leptospirosis principales

Serovariedad[a] *Leptospira interrogans*	Animal del que procede la infección	Enfermedad en seres humanos	Manifestaciones clínicas	Distribución
Autumnalis	?	Fiebre pretibial o del Fuerte Braga	Fiebre, erupción sobre la tibia	EUA, Japón
Ballum	Ratones	—	Fiebre, erupción, ictericia	EUA, Europa, Israel
Bovis	Ganado vacuno, ratones campestres	—	Fiebre, postración	EUA, Israel, Australia
Canicola	Orina de perro	Ictericia infecciosa	Cuadro similar a influenza, meningitis aséptica	Nivel mundial
Grippotyphosa	Roedores, agua	Fiebre de marismas	Fiebre, postración, meningitis aséptica	Europa, EUA, África
Hebdomadis	Ratas, ratones	Fiebre del séptimo día	Fiebre, ictericia	Japón, Europa
Icterohaemorrhagiae	Orina de rata, agua	Enfermedad de Weil	Ictericia, hemorragias, meningitis aséptica	Nivel mundial
Mitis	Cerdos	Enfermedad de criadores de cerdos	Meningitis aséptica	Australia
Pomona	Ganado porcino y bovino	Enfermedad de criadores de cerdos	Fiebre, postración, meningitis aséptica	Europa, EUA, Australia

[a]Anteriormente se les denominaba especies.

EUA, Estados Unidos de América.

consecuencia de la infección en seres humanos y en animales al parecer muestra especificidad de serovariedades.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras comprenden sangre obtenida por técnicas asépticas en tubos con heparina, líquido cefalorraquídeo o tejido, para el estudio microscópico y el cultivo. La orina se obtiene con gran cuidado para no contaminarla. Se reúne el suero para hacer pruebas de aglutinación.

B. Examen microscópico

En ocasiones en el examen con campo oscuro o extensiones gruesas teñidas con el colorante Giemsa se identifican leptospiras en sangre recién obtenida, de infecciones incipientes. El estudio hecho con campo oscuro, de orina centrifugada, también puede arrojar resultados positivos. Cabe recurrir también a los anticuerpos conjugados con fluoresceína o a otras técnicas inmunohistoquímicas.

C. Cultivo

Es posible cultivar el microorganismo en un medio semisólido, sangre completa u orina recién obtenidas. Existen sustancias inhibidoras en la sangre y por ello se coloca solamente una o dos gotas en cada uno de los cinco tubos que contienen 5 o 10 ml del medio de laboratorio. Es posible utilizar incluso 0.5 ml de líquido cefalorraquídeo. Se coloca una gota de la orina sin diluir y se coloca otra gota de la orina diluida en forma seriada 10 veces, hasta un total de cuatro tubos. Es importante triturar y utilizar como inóculo tejido que tenga en promedio 5 mm de diámetro. La proliferación es lenta y hay que conservar los cultivos durante ocho semanas, como mínimo.

D. Serología

El diagnóstico de leptospirosis en muchos casos se confirma por métodos serológicos. Los anticuerpos aglutinantes aparecen en primer lugar cinco a siete días después de la infección y poco a poco llegan a un punto máximo a las cinco a ocho semanas. Es posible detectar títulos altísimos (por arriba de 1:10 000). La norma de los laboratorios especializados para detectar anticuerpos a leptospiras utiliza la aglutinación microscópica de microorganismos vivos, procedimiento que puede ser peligroso. El método es muy sensible, pero difícil de estandarizar; el punto final sería la aglutinación al 50%, difícil de determinar. La aglutinación de las suspensiones de microorganismos vivos es muy específica para la serovariedad de las leptospiras infectantes. Las pruebas de aglutinación por lo común sólo se realizan en laboratorios especializados. Pueden confirmar el diagnóstico los sueros en pares que señalan un cambio significativo de su título, o un solo suero con un alto título de aglutininas, y además un cuadro clinicopatológico compatible. Ante la dificultad de practicar las pruebas de aglutinación definitivas, se han creado otras más que se usan preferentemente para detección.

Inmunidad

Después de la infección persiste la inmunidad específica de las variedades serológicas, pero a veces hay reinfección con otras serovariedades.

Tratamiento

El tratamiento de la leptospirosis benigna debe incluir doxiciclina, ampicilina o amoxicilina ingeridas. El de la enfermedad moderada o grave debe incluir penicilina o ampicilina por vía endovenosa.

Epidemiología, prevención y control

Las leptospirosis son esencialmente infecciones de animales y el hombre las contrae sólo de manera accidental después del contacto con agua y otros materiales contaminados con las excretas de animales hospedadores. La infección de seres humanos procede principalmente de ratas, ratones, roedores salvajes, perros, cerdos y ganado bovino, pues excretan leptospiras en la orina durante la fase de enfermedad activa y en la de portador asintomático. Los microorganismos quedan viables en agua estancada, durante semanas, y la persona que beba, nade, se bañe o consuma alimentos contaminados puede infectarse. Los individuos que están más a menudo en contacto con el agua contaminada por ratas (mineros, trabajadores de alcantarillas, agricultores y pescadores) están expuestos a un mayor peligro de infección. Los niños se contagian de perros, con mayor frecuencia que los adultos. El control consiste en evitar la exposición al agua que puede estar contaminada, y disminuir la contaminación, por eliminación de roedores. La profilaxis eficaz se logra con la ingestión de 200 mg de doxiciclina una vez por semana durante fases de exposición intensa. A los perros se les puede aplicar vacunas contra el moquillo-hepatitis-leptospirosis.

OTRAS ESPIROQUETOSIS

SPIRILLUM MINOR (SPIRILLUM MORSUS MURIS)

S. minor causa una forma de la fiebre por mordedura de rata o sodoku; el microorganismo espiral rígido, muy pequeño (3 a 5 μm), es portado por ratas en todo el mundo. Es inoculado a los seres humanos por medio de la mordedura de una rata y ocasiona una lesión local, adenopatía regional, erupciones cutáneas y fiebre recidivante. La frecuencia de la enfermedad depende del grado de contacto entre los humanos y las ratas. El espirilo se aísla por inoculación de cobayos o ratones con material obtenido de ganglios hinchados o sangre, pero no crece en medios bacteriológicos. En Estados Unidos y en Europa sólo en contadas ocasiones se diagnosticó la enfermedad. Otros microorganismos aeróbicos espiroideos, gramnegativos e inmóviles, pueden ocasionar la fiebre por espirilos.

ESPIROQUETAS DE LA BOCA Y LAS MUCOSAS NORMALES

En la boca normal de cualquier persona pueden identificarse espiroquetas; algunas de ellas han sido denominadas con el nombre de *Borrelia buccalis,* pero su morfología o sus actividades fisiológicas no permiten su clasificación definitiva. En genitales normales a veces se identifica una espiroqueta llamada *Borrelia refringens* que a veces es confundida con *T. pallidum.* Los microorganismos mencionados son saprófitos inocuos en situaciones corrientes. Muchos son anaerobios estrictos que se multiplican en tubos con caldo de infusión de carne sellado con vaselina, a los cuales se agrega tejido.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una mujer de 28 años con embarazo de 10 semanas, acude a la clínica de obstetricia para sus cuidados prenatales. Tiene el antecedente de que siete años antes fue tratada de sífilis. Los resultados de sus pruebas serológicas de sífilis son: prueba no treponémica RPR, no reactiva; prueba treponémica (TP-PA), reactiva. De los planteamientos siguientes, ¿cuál es el más acertado?
   (A) El tratamiento previo de la sífilis fue eficaz
   (B) El producto está expuesto a un gran riesgo de presentar sífilis congénita
   (C) La madre necesita repetir el tratamiento contra la sífilis
   (D) La madre necesita ser sometida a punción lumbar y que en el líquido cefalorraquídeo se practique la prueba de VDRL para identificar neurosífilis
2. ¿Cuáles de las entidades o enfermedades siguientes puede ocasionar la positividad falsa de una prueba no treponémica de sífilis (VDRL o RPR)?
   (A) Lupus eritematoso
   (B) Sarampión
   (C) Lepra
   (D) Embarazo
   (E) Transfusiones de sangre
   (F) Paludismo
   (G) Todas las anteriores
3. Una mujer de 20 años acude al médico con una úlcera de 2 cm en los labios mayores de la vulva. La lesión tiene un borde elevado y es relativamente indolora. Entre las entidades por incluir en el diagnóstico diferencial de la lesión están
   (A) Infección por adenovirus
   (B) Infección por virus del papiloma
   (C) Infección por *Neisseria gonorrhoeae*
   (D) Cervicitis por *Chlamydia trachomatis*
   (E) Infección por *Treponema pallidum*
4. Una mujer de 42 años regresó de acampar en las montañas de Sierra Nevada, y en ellas durmió dos noches en una cabaña de troncos abandonada. Después de la segunda noche, descubrió una garrapata en su hombro. Seis días más tarde presentó fiebre de 38°C que duró cuatro días. Diez días más tarde tuvo otro episodio de fiebre. El estudio de sangre en frotis teñido con colorante de Wright indicó la presencia de espiroquetas, similares a *Borrelia.* ¿Cuál de los planteamientos siguientes en cuanto a la fiebre recidivante (borreliosis) por *Borrelia hermsii* es correcto?
   (A) Cada recidiva depende de una variante antigénicamente distinta
   (B) Es importante practicar frotis de sangre cuando la mujer no tenga fiebre
   (C) Las borrelias no tienen transmisión transovárica de una generación a la siguiente en las garrapatas
   (D) Los principales reservorios de *Borrelia* son el ciervo o los venados
   (E) *Borrelia hermsii* es resistente a la penicilina y la tetraciclina
5. Un varón de 23 años acudió al médico con maculopápulas en gran parte del tronco pero no en la boca, ni en las palmas, o las manos. En el diagnóstico diferencial se consideró la posibilidad de sífilis secundaria, razón por la cual se practicó una prueba RPR, que fue positiva en dilución de 1:2. Sin embargo, la prueba (TP-PA) fue negativa. De las enfermedades siguientes, ¿cuál debe descartarse?
   (A) Sífilis secundaria
   (B) Sarampión atípico
   (C) Infección por virus Coxsackie
   (D) Infección aguda por VIH 1
   (E) Reacción alérgica a fármacos
6. De los animales siguientes, ¿de cuál procede *Leptospira interrogans?*
   (A) Ganado vacuno
   (B) Perros
   (C) Ratones
   (D) Ratas
   (E) Cerdos
   (F) Todos los anteriores
7. Un residente médico de 27 años fue hospitalizado por fiebre de 39°C y cefaleas, ambas de comienzo repentino. Dos semanas antes estuvo de vacaciones en zonas rurales de Oregon y frecuentemente nadó en un canal de riego, que bordeaba tierras en que pastaban vacas. Las pruebas hemáticas practicadas poco después de la hospitalización señalaron anormalidades de la función renal e incremento del nivel de bilirrubina y de las cifras de otras pruebas de función hepática. Se obtuvieron resultados negativos de los cultivos corrientes de sangre, orina y líquido cefalorraquídeo. Se planteó la sospecha de leptospirosis. De los estudios siguientes, ¿cuáles confirmarán el diagnóstico con mayor probabilidad?
   (A) Estudio de los sueros de fase aguda y de convalecencia, por medio de la prueba RPR
   (B) Cultivo de orina en fibroblastos diploides de humanos
   (C) Estudio del suero en campo oscuro en busca de leptospiras
   (D) Estudio de sueros de fase aguda y de convalecencia en busca de anticuerpos contra leptospiras
   (E) Cultivo de líquido cefalorraquídeo en agar sangre y chocolate
8. Un varón de 47 años acude al médico por artritis de evolución lenta de sus rodillas. Le place practicar caminatas en las zonas costeras del norte de California en que la prevalencia de *Borrelia burgdorferi* en las garrapatas *Ixodes* es de 1 a 3% (se considera que es una cifra pequeña). El paciente se muestra preocupado por la posibilidad de tener la enfermedad de Lyme. Nunca se percató de que alguna garrapata se adhiriera a su cuerpo ni se identificó alguna erupción roja en expansión. Se observa positividad en EIA correspondiente a la borreliosis de Lyme. ¿Qué medidas deben adoptarse en este momento?
   (A) Obtener una muestra de biopsia de la membrana sinovial de articulación de la rodilla y buscar en ella *Borrelia burgdorferi*
   (B) Administración de antibióticos para tratar la enfermedad de Lyme
   (C) Realización de PCR en el plasma del paciente, para detectar *Borrelia burgdorferi*
   (D) Es necesario enviar una muestra de suero a un laboratorio que practique inmunotransferencia, para detectar anticuerpos que reaccionen a antígenos de *Borrelia burgdorferi*
9. De los agentes siguientes, ¿cuál puede ocasionar que la prueba no treponémica de sífilis (VDRL o RPR) sea positiva falsa?
   (A) Virus de varicela-zoster
   (B) *Borrelia burgdorferi*
   (C) *Streptococcus pyogenes*
   (D) Virus de Epstein-Barr
   (E) Virus de hepatitis B
   (F) Todas las anteriores
10. De los microorganismos siguientes, ¿cuál infecta predominantemente el hígado y los riñones?
   (A) *Streptobacillus moniliformis*
   (B) *Leptospira interrogans*
   (C) *Staphylococcus aureus*
   (D) *Escherichia coli*
   (E) *Enterococcus faecalis*
   (F) *Treponema pallidum*

Respuestas

1. A	4. A	7. D	10. B
2. G	5. A	8. D	
3. E	6. F	9. F	

BIBLIOGRAFÍA

Hook EW III: Endemic treponematoses. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.

Levett PN: *Leptospira*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Levett PN, Hakke DA: *Leptospira* spicies (Leptospirosis). In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.

Pope V, Norris SJ, Johnson RE: *Treponema* and other human host-associated spirochetes. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Rhee KY, Johnson WD Jr: *Borrelia* species (relapsing fever). In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.

Steere AC: *Borrelia burgdorferi* (Lyme disease, Lyme borreliosis). In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.

Tramont EC: *Treponema pallidum* (syphilis). In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.

Wilske B, Johnson BJB, Schriefer ME: *Borrelia*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

CAPÍTULO 25

Micoplasmas y bacterias con pared defectuosa

MICOPLASMAS

Se han identificado más de 150 especies de bacterias sin pared (pared defectuosa), y como mínimo, 15 de ellas, según expertos, son de origen humano, en tanto que las otras se han aislado de animales y plantas. En los seres humanos, cuatro especies son de importancia primordial: *Mycoplasma pneumoniae* causa neumonía y se le ha vinculado con infecciones articulares y de otros sitios. *Mycoplasma hominis* a veces causa fiebre puerperal y se le ha identificado junto con otras bacterias en infecciones de trompas uterinas. *Ureaplasma urealyticum* es causa de uretritis no gonocócica en varones y puede ocasionar neumopatías en prematuros de bajo peso. *Mycoplasma genitalium* tiene gran semejanza con *M. pneumoniae* y se ha dicho que causa infecciones uretrales y de otro tipo. Otros miembros del género *Mycoplasma* son patógenos de aparatos respiratorio y urogenital y de articulaciones de animales.

M. genitalium, que entre los micoplasmas es la de genoma más pequeño, tiene, en promedio, un poco más del doble del tamaño del genoma de algunos grandes virus. Los micoplasmas son los microorganismos de menor tamaño que pueden vivir libres en la naturaleza y replicarse por sí mismos en medios de laboratorio. Poseen las características siguientes: 1) los más pequeños tienen 125 a 250 nm de tamaño; 2) son muy pleomórficos porque no tienen una pared rígida y en vez de ella están circundados por una "membrana unitaria" trilaminar que contiene un esterol (se necesita la adición de suero o colesterol a medios de cultivo para que los micoplasmas generen esteroles y proliferen); 3) los micoplasmas son absolutamente resistentes a la penicilina porque no tienen estructuras de la pared en las cuales actúe dicho antibiótico, pero son inhibidos por tetraciclinas o eritromicina; 4) los micoplasmas se reproducen en medios acelulares; en el agar, el centro de toda la colonia está situado de manera característica por debajo de la superficie; 5) la proliferación de micoplasmas es inhibida por anticuerpos específicos, y 6) los micoplasmas muestran afinidad por membranas de células de mamíferos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Es imposible estudiar los micoplasmas por los métodos bacteriológicos usuales, por la pequeñez de sus colonias, y la plasticidad y fragilidad de sus células individuales. La proliferación en medios líquidos da origen a formas diferentes; la que ocurre en medios sólidos consiste más bien en masas protoplásmicas de contornos indefinidos que fácilmente se deforman. El tamaño de dichas estructuras es muy variable y va de 50 a 300 nm de diámetro. Su morfología es diferente, con arreglo al método de estudio (campo oscuro, inmunofluorescencia, extensiones teñidas con colorante de Giemsa para medios sólidos o líquidos y fijación en agar).

B. Cultivo

El cultivo de micoplasmas patógenos para los humanos obliga a usar medios con suero o líquido de ascitis, factores de crecimiento, extracto de levadura o un sustrato metabólico como la glucosa o la urea. No existe un solo medio óptimo para todas las especies porque muestran propiedades y necesidades de sustrato diferentes. Después de incubación a 37°C durante 48 a 96 h posiblemente no haya enturbiamiento en caldos de cultivo; sin embargo, en las tinciones con Giemsa del sedimento centrifugado se identifican las estructuras pleomórficas características y el subcultivo en un medio sólido permite el crecimiento de colonias pequeñísimas.

Después de dos a seis días en el medio bifásico (caldo sobre agar) y el agar incubados en una caja de Petri sellada para evitar la evaporación, se detectan con una lupa corriente colonias aisladas que miden 20 a 500 μm; son redondas, con una superficie granulosa y el centro oscuro "enterrado" típicamente en el agar. Se les puede subcultivar al seccionar un cuadrado pequeño de agar que contenga una o más colonias y sembrar dicho material en una placa reciente, o vaciarlo en goteo al medio líquido. Los microorganismos se tiñen para estudio microscópico al colocar en forma similar otro cuadro en una laminilla y cubrir la colonia con un cubreobjetos en el cual se haya aplicado y evaporado solución alcohólica de azul de metileno y azur (fijación en agar). Las laminillas se pueden teñir con anticuerpo fluorescente específico.

C. Características de crecimiento

Los micoplasmas tienen carácter singular en la microbiología porque: 1) son muy pequeños y 2) proliferan en medios complejos pero acelulares.

Los microorganismos en cuestión atraviesan filtros que tengan poros de 450 nm y esta característica los hace similares a las clamidias o a grandes virus. Sin embargo, los micoplasmas parásitos proliferan en medios acelulares que contengan lipoproteína y esterol y la necesidad de este último alcohol para su proliferación y síntesis de membrana le confieren su carácter peculiar.

Muchos micoplasmas utilizan glucosa como fuente de energía y los ureaplasmas necesitan urea.

Algunos micoplasmas de humanos generan peróxidos y hemolizan eritrocitos. En cultivos celulares e *in vivo*, los micoplasmas proliferan de manera predominante en superficies celulares. Muchas líneas establecidas de cultivo de células animales y humanas portan micoplasmas como contaminantes y a menudo son intracelulares.

D. Variación

El pleomorfismo extraordinario de los micoplasmas constituye una de sus características principales.

Estructura antigénica

De los animales se han aislado muchas especies de micoplasmas antigénicamente distintas (de ratones, pollos y pavos). En los seres humanos se han identificado, como mínimo, 14 especies que incluyen *M. hominis, Mycoplasma salivarium, Mycoplasma orale, Mycoplasma fermentans, M. pneumoniae, M. genitalium, U. urealyticum* y otros más. Las especies se clasifican con base en características bioquímicas y serológicas. Los antígenos de fijación de complemento (CF, *complement fixation*) de los micoplasmas son glucolípidos y los que corresponden a métodos ELISA son proteínas. Algunas especies poseen varios serotipos.

Patogenia

Muchos micoplasmas patógenos tienen contornos similares a redomas de laboratorio o filamentos y poseen estructuras polares especializadas que median su adherencia a las células del hospedador. Dichas estructuras constituyen un grupo complejo de proteínas interactivas, adhesinas y proteínas accesorias de adherencia. Las proteínas en cuestión poseen abundante prolina, que influye en el plegado y la unión proteínica, y es importante en la adherencia a células. Los micoplasmas se adhieren a la superficie de células ciliadas y no ciliadas, probablemente por medio de sialoglucoconjugados de mucosas y de glucolípidos sulfatados. Algunos micoplasmas no tienen las estructuras características de los extremos y utilizan proteína como la adhesina, o tienen otros mecanismos para adherirse a las células de hospedadores. No se conocen en detalle los fenómenos ulteriores en el caso de infecciones, pero pudieran incluir los siguientes: citotoxicidad directa por medio de la generación de peróxido de hidrógeno y radicales superóxido; citólisis mediada por reacciones de antígeno-anticuerpo o por quimiotaxis y acción de mononucleares, y competencia por nutrientes hasta agotarlos.

Infección por micoplasmas

Los micoplasmas al parecer muestran especificidad de hospedador, son transmisibles y pueden ser patógenos sólo dentro de una sola especie de hospedadores. En los animales al parecer son parásitos intracelulares y muestran predilección por células mesoteliales (pleura, peritoneo, membrana sinovial de articulaciones). Elaboran a veces algunos productos extracelulares (como hemolisina).

A. Infección de seres humanos

Se han cultivado micoplasmas de las mucosas y tejidos de humanos, en particular de las vías genitales y urinarias, y del aparato respiratorio. Son parte de la flora normal de la boca y pueden proliferar en muestras de saliva, mucosa de la boca, esputo y tejido amigdalino normales. En la cavidad bucal de muchos adultos sanos se puede identificar *M. salivarium, M. orale* y otros micoplasmas, pero no hay certeza de que originen alguna enfermedad clínica. *M. hominis* es detectado en la orofaringe en menos de 5% de los adultos, y *M. pneumoniae* en dicho sitio por lo común ocasiona enfermedad (véase adelante).

Algunos micoplasmas se localizan en el aparato genitourinario, en particular en mujeres. En uno y otro sexos el estado de portador genital de micoplasmas guarda relación directa con el número de compañeros sexuales durante toda la vida. *M. hominis* se cultiva en 1 a 5% de varones asintomáticos y en 30 a 70% de mujeres sin síntomas; tales cifras aumentan a 20% y más de 90% de positividad en varones y mujeres, respectivamente, en clínicas que atienden personas con enfermedades de transmisión sexual. *U. urealyticum* se localiza en el aparato genital de 5 a 20% de varones sexualmente activos y en 40 a 80% de mujeres con esa misma característica. En promedio, 20% de mujeres que acuden a clínicas para la atención de enfermedades de transmisión sexual tienen *M. genitalium* en la zona inferior de su aparato genital, y en esa zona también se identifican otros micoplasmas.

B. Infección de animales

La pleuroneumonía bovina es una enfermedad contagiosa que a veces causa la muerte de ganado vacuno, por neumonía y derrame pleural. Es probable que la propagación del microorganismo se haga por el aire. En los exudados inflamatorios se identifican micoplasmas.

La agalactia de ovejas y cabras en la zona mediterránea es una infección generalizada con lesiones locales en la piel, ojos, articulaciones, las ubres y el escroto; ocasiona atrofia de glándulas mamarias en las hembras. En fases iniciales aparecen micoplasmas en la sangre, y más tarde, en la leche y en los exudados. En aves de corral, los micoplasmas causan algunas enfermedades económicamente importantes del aparato respiratorio. Son transmitidas de la gallina al huevo y al pollo. Los cerdos, los perros, las ratas, los ratones y otras especies tienen micoplasmas que producen infección que abarca en particular la pleura, el peritoneo, las articulaciones, el aparato respiratorio y los ojos. En los ratones, el *Mycoplasma* de forma espiral (espiroplasma) induce la formación de cataratas.

C. Infección de plantas

Algunas enfermedades de plantas como el amarillo del aster, la atrofia de granos (maíz) y otras más al parecer son causadas por micoplasmas. Las transmiten insectos y es posible suprimirlas con tetraciclinas.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras comprenden material faríngeo obtenido por aplicadores, esputo, exudados inflamatorios y secreciones de vías respiratorias, uretra o genitales.

B. Examen microscópico

No es útil el examen directo de una muestra en busca de micoplasmas. Los cultivos se practican como se describe más adelante.

C. Cultivos

El material es inoculado en medios sólidos especiales e incubado tres a 10 días a 37°C con CO_2 al 5% (en un entorno microaerófilo) o en caldo especial e incubado en un entorno aerobio. En ocasiones son necesarias una o dos transferencias de medio de cultivo para que prolifere el microorganismo, y que sea adecuado para el estudio microscópico por medio de tinción o inmunofluorescencia. Las colonias en agar pueden tener un aspecto de "huevo frito".

D. Serología

En los seres humanos infectados por micoplasmas surgen anticuerpos que se demuestran por varios métodos. Se realizan estudios de fijación de complemento con los antígenos glucolípidos extraídos con cloroformo-metanol, de micoplasmas cultivados. Las pruebas de inhibición de la hemoaglutinación se aplican a eritrocitos marcados con tanino y con antígenos de *Mycoplasma* adsorbidos. Puede utilizarse la inmunofluorescencia indirecta. El método que mide la inhibición de la proliferación por acción de un anticuerpo es muy específico. En el caso de todas las técnicas serológicas mencionadas, existe especificidad adecuada de diferentes especies de *Mycoplasma* de humanos, pero se necesita un título cada vez mayor de anticuerpos para que adquiera importancia diagnóstica, ante la elevada incidencia de estudios serológicos positivos en sujetos normales. Desde el punto de vista serológico muestran reactividad cruzada *M. pneumoniae* y *M. genitalium.*

Tratamiento

Muchas cepas de micoplasmas son inhibidas por diversos antimicrobianos, pero otras más son resistentes a penicilinas, cefalosporinas y vancomicina. Las tetraciclinas y la eritromicina son eficaces *in vitro* e *in vivo* y en la actualidad son los fármacos más indicados en caso de neumonía por micoplasma. Algunas ureaplasmas son resistentes a la tetraciclina.

Epidemiología, prevención y control

El aislamiento de reses y otros animales infectados controla la pleuroneumonía y la agalactia altamente contagiosa. No se dispone de vacunas. La evolución de la neumonía por micoplasma es similar a la de una enfermedad viral transmisible del aparato respiratorio (véase adelante).

MYCOPLASMA PNEUMONIAE Y NEUMONÍAS ATÍPICAS

M. pneumoniae es causa importante de neumonía, en particular en personas de cinco a 20 años de edad.

Patogenia

M. pneumoniae es transmitida de una persona a otra por medio de secreciones infectadas del aparato respiratorio. La infección comienza al fijar el microorganismo su extremo a un receptor en la superficie de las células del epitelio respiratorio (fig. 25-1). La fijación es mediada por una adhesina que es una proteína específica, en la estructura terminal diferenciada del microorganismo. Durante la infección, los micoplasmas están fuera de las células.

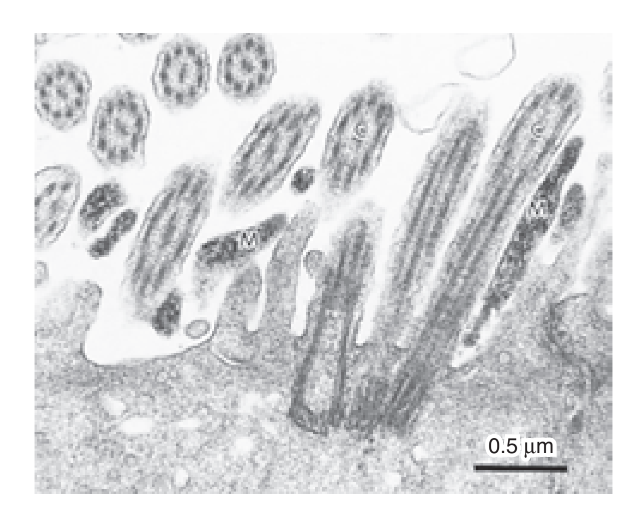


FIGURA 25-1 Micrografía electrónica de *Mycoplasma pneumoniae* fijado a células ciliadas del epitelio de vías respiratorias en una muestra de esputo en una persona con neumonía por dicho microorganismo, comprobada en cultivo. Los microorganismos (M) se detectan en el borde luminal, fijados entre los cilios (C). (Por cortesía de AM Collier, Department of Pediatrics, University of North Carolina.)

Manifestaciones clínicas

La neumonía por micoplasmas por lo común es de poca intensidad y benigna. El aspecto clínico de la infección por *M. pneumoniae* varía desde un estado asintomático hasta neumonitis grave, con ataque ocasional del sistema nervioso y la sangre (como anemia hemolítica) y diversas lesiones cutáneas posibles. La miringitis ampollosa aparece en casos espontáneos y en voluntarios inoculados en forma experimental.

El periodo de incubación varía de una a tres semanas. El comienzo por lo común es insidioso y la persona muestra astenia, fiebre, cefalea, faringitis y tos. En el comienzo la tos no es productiva, pero a veces es paroxística; más adelante el esputo es hemoptoico y hay dolor retroesternal. En los comienzos de la evolución el ataque general es moderado y suelen ser poco intensos los signos físicos de consolidación pulmonar, en comparación con la consolidación extraordinaria que se identifica en las radiografías. Más adelante, cuando llega a su máximo la infiltración, la enfermedad puede ser grave. Lentamente en el curso de una a cuatro semanas el infiltrado pulmonar muestra resolución y hay mejoría clínica. La evolución del trastorno es muy variable, pero muy pocas veces el paciente muere, situación que suele ser atribuible a insuficiencia cardiaca. Las complicaciones son poco comunes pero a veces surge anemia hemolítica. Los signos patológicos más frecuentes son neumonitis intersticial y peribronquial y bronquiolitis necrosante. Otros cuadros que quizá provengan del ataque de *M. pneumoniae* incluyen eritema multiforme; afección del sistema nervioso central que incluye meningitis, meningoencefalitis y mononeuritis y polineuritis; y otros como miocarditis, pericarditis, artritis y pancreatitis.

Causas frecuentes de neumonía bacteriana de origen comunitario, además de *M. pneumoniae* comprenden *Streptococcus pneumoniae, Legionella pneumophila, Chlamydia pneumoniae,* y *Haemophilus influenzae.* El cuadro inicial de dichas infecciones es muy semejante y es importante identificar signos y síntomas sutiles. Es necesario conocer el agente causal por estudio y cultivo del esputo, cultivo de sangre y otros métodos.

Pruebas de laboratorio

El diagnóstico de neumonía por *M. pneumoniae* se hace en gran medida por la identificación clínica del síndrome, y los métodos de laboratorio tienen utilidad secundaria. Puede haber incremento leve del número de leucocitos. La tinción de Gram del esputo es útil en cuanto a que no sugiera la participación de otras bacterias patógenas como *S. pneumoniae*. Los micoplasmas causales se identifican por cultivo en material de la faringe y del esputo, pero la prueba mencionada es muy especializada y casi nunca se practica para el diagnóstico de la infección por el germen comentado. En casi la mitad de los enfermos no tratados surgen criohemaglutininas para eritrocitos humanos del grupo O, en título cada vez mayor, y la cifra máxima se alcanza en la tercera o la cuarta semanas después del comienzo. Detectar un título de 1:64 o más es un dato que refuerza el diagnóstico de infección por *M. pneumoniae.* Se observa el incremento en el título de anticuerpos específicos contra *M. pneumoniae*, que es demostrable por fijación de complemento; se necesitan sueros de fase aguda y de convalecencia para corroborar un aumento cuádruple en el título de anticuerpos detectados por fijación de complemento. EIA para detectar los anticuerpos IgM e IgG es muy sensible y específica, pero no se le practica fácilmente. Se puede confirmar el diagnóstico por medio de la reacción en cadena de polimerasa (PCR) de muestras obtenidas con aplicador en la faringe u otro material clínico, pero por lo regular se realiza sólo en laboratorios especializados.

Tratamiento

Con las tetraciclinas o las eritromicinas se obtiene mejoría clínica pero no erradican los micoplasmas.

Epidemiología, prevención y control

Las infecciones por *M. pneumoniae* son endémicas en todo el mundo. En poblaciones de niños y adultos jóvenes en que prevalece el contacto muy cercano y en familias, la cifra de infección puede ser grande (50 a 90%), pero la incidencia de neumonitis es variable (3 a 30%). Por cada caso de neumonitis franca existen otros más de cuadros respiratorios más benignos. Al parecer *M. pneumoniae* se transmite de manera predominante por contacto directo en que participan secreciones de vías respiratorias. Los segundos ataques son poco frecuentes. La presencia de anticuerpos contra *M. pneumoniae* se ha vinculado con resistencia a la infección, pero quizá no sea la causa de ella. Se observan reacciones inmunitarias de tipo celular. El cuadro neumónico puede atribuirse en parte a una respuesta inmunológica y no sólo a la infección por micoplasmas.

MYCOPLASMA HOMINIS

M. hominis se ha vinculado con diversas enfermedades, pero sólo en unas cuantas de ellas constituye su causa demostrada. Las pruebas de que existe una relación causal se obtienen de estudios de cultivos y serológicos.

M. hominis se cultiva de la porción superior del aparato urinario en casi 10% de sujetos con pielonefritis; este microorganismo se encuentra estrechamente vinculado con la infección de las trompas uterinas (salpingitis) y con la aparición de abscesos tuboováricos; es posible aislarlo de las trompas en 10%, aproximadamente, de las pacientes de salpingitis, pero no de mujeres sin signos de la enfermedad. Más a menudo las mujeres con salpingitis generan anticuerpos contra *M. hominis* que quienes no tienen la enfermedad. Se ha aislado *M. hominis* de la sangre de casi 10% de mujeres que muestran fiebre después de aborto o parto y en ocasiones en cultivos del líquido sinovial con artritis.

UREAPLASMA UREALYTICUM

Diversas enfermedades se atribuyen al ataque de *U. urealyticum*, a semejanza de *M. hominis*, pero sólo en unas cuantas han sido causa demostrable. Es probable que *U. urealyticum,* que necesita 10% de urea para crecer, cause uretritis no gonocócica en algunos varones, pero la mayor parte de los casos de dicho cuadro proviene del ataque de *Chlamydia trachomatis* (cap. 27). *U. urealyticum* es frecuente en el aparato genital de la mujer, sitio en que es poco importante el vínculo con enfermedades. Se ha dicho que *U. urealyticum* causa enfermedades pulmonares en prematuros de bajo peso natal que se contagiaron del microorganismo al nacer, pero no se ha demostrado claramente un efecto causal. Las pruebas de que *U. urealyticum* causa infecundidad involuntaria son apenas suficientes, en el mejor de los casos.

MYCOPLASMA GENITALIUM

M. genitalium fue aislado originalmente de cultivos de material uretral de dos varones con uretritis no gonocócica, pero es difícil cultivarlo, y las observaciones ulteriores se han basado en datos obtenidos por medio de reacción en cadena de polimerasa, sondas moleculares y métodos serológicos. Los datos sugieren que *M. genitalium* en varones ocasiona algunos casos de uretritis no gonocócica aguda y otros de la forma crónica. En las mujeres, se ha dicho que el microorganismo mencionado causa diversas infecciones como cervicitis, endometritis, salpingitis e infecundidad.

BACTERIAS CON PARED DEFECTUOSA

Las **variantes de fase L (formas L)** son formas microbianas con defectos de la pared que pueden mostrar réplica seriada a la manera de células no rígidas y producir colonias en medios sólidos. Algunas variantes de fase L son estables, otras son inestables y vuelven a las formas bacterianas originales. Las formas con defectos de la pared no guardan relación genética con los micoplasmas; son consecuencia de la mutación espontánea o de efectos de sustancias químicas. El tratamiento de eubacterias con fármacos que inhiben la pared o con lisozimas origina formas microbianas con defectos parietales. Los **protoplastos** son las formas comentadas que por lo común provienen de microorganismos grampositivos; son osmóticamente frágiles y sus superficies externas no tienen constituyentes parietales. Los **esferoplastos** son formas con deficiencias parietales que por lo común provienen de bacterias gramnegativas y algunas conservan material de la membrana externa.

Las formas con defectos parietales siguen sintetizando algunos antígenos que normalmente están en la pared de las bacterias originales (p. ej., las formas L estreptocócicas producen proteína M y polisacárido capsular). La "vuelta" o reversión de las formas L a la bacteria original es facilitada por la prolifera-

ción en presencia de gelatina al 15 a 30% o de agar al 2.5%. La reversión es inhibida por inhibidores de la síntesis proteínica.

No se ha dilucidado si las formas microbianas con defectos parietales causan reacciones tisulares que culminan en enfermedades; pudieran tener importancia en caso de persistencia de microorganismos en los tejidos y recidiva de infecciones después de tratamiento con antimicrobianos, como en casos raros de endocarditis.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. *Ureplasma urealyticum* recibió tal nombre porque
   (A) Prolifera abundantemente en la zona superior del aparato urinario
   (B) Necesita de la urea como sustrato para proliferar
   (C) Es causa frecuente de infecciones sintomáticas de la vejiga en mujeres jóvenes
   (D) Causa infecciones crónicas del aparato urinario en prematuros hijos de madres con ureaplasmas como parte de su flora genital
2. Mujer de 18 años sexualmente activa que presenta dolor del cuadrante inferior izquierdo y fiebre. En el tacto ginecológico se advierte dolor a la palpación del anexo izquierdo y se palpa una masa que sugiere un absceso en la trompa uterina. Se hace el diagnóstico de enfermedad inflamatoria pélvica. ¿Cuál de las siguientes bacterias es considerada como causa frecuente de la enfermedad mencionada?
   (A) *Bacillus cereus*
   (B) *Haemophilus influenzae*
   (C) *Neisseria subflava*
   (D) *Mycoplasma pneumoniae*
   (E) *Chlamydia trachomatis*
3. De los factores siguientes, ¿cuál es importante en la patogenia de infecciones por micoplasmas?
   (A) El peptidoglucano de la pared del micoplasma
   (B) La presencia de lacto-*N*-neotetraosa, con una galactosamina terminal como receptor de las células del hospedador
   (C) Las estructuras y las proteínas interactivas que median la adherencia a células del hospedador
   (D) La ausencia de cilios en la superficie de las células del hospedador
   (E) La proliferación en un sitio anatómico en el que proliferan microorganismos anaerobios
4. Una mujer de 25 años es enviada a una clínica de atención de enfermedades de transmisión sexual, por contacto con un compañero con gonorrea. La mujer tuvo 15 compañeros (varones) sexuales desde que comenzó su vida sexual activa. La posibilidad de que también tenga una infección por *Mycoplasma hominis* en genitales es de
   (A) 1%
   (B) 5%
   (C) 15%
   (D) 40%
   (E) 90%
5. Estudiante de medicina de 25 años que tuvo contacto con un paciente que tenía neumonía, con fiebre y tos. Cuatro días más tarde el estudiante presentó fiebre y tos y en las radiografías de tórax se identificó consolidación del lóbulo inferior derecho. En los cultivos sintomáticos de esputo en busca de bacterias no se detectaron. Se pensó en la neumonía causada por *Mycoplasma pneumoniae*. De los métodos siguientes, ¿cuál es el más adecuado para confirmar el diagnóstico?
   (A) Amplificación del DNA de *Mycoplasma pneumoniae* en esputo por reacción en cadena de polimerasa
   (B) Cultivo de esputo en busca de *Mycoplasma pneumoniae*
   (C) Tinción de Gram de una extensión de esputo
   (D) Cultivo de material pulmonar obtenido por aspiración, para detectar *Mycoplasma pneumoniae*
   (E) Fijación de complemento de sueros de fase aguda y de convalecencia
6. Los microorganismos siguientes pueden ocasionar infecciones en aparato genital, *excepto*:
   (A) *Mycoplasma hominis*
   (B) *Neisseria gonorrhoeae*
   (C) *Mycoplasma pneumoniae*
   (D) *Chlamydia trachomatis*
   (E) *Mycoplasma genitalium*
7. Los micoplasmas poseen todas las características siguientes, *excepto*:
   (A) Poseer DNA y RNA por igual
   (B) Capacidad de proliferación en medio acelular
   (C) Susceptibilidad a la penicilina G
   (D) Parasitismo extracelular *in vivo*
8. De los tipos de pruebas que se señalan, ¿cuál es la que se utiliza con mayor facilidad en el laboratorio para confirmar la presencia de una infección por *Mycoplasma pneumoniae*?
   (A) Cultivo en caldo que contenga suero, glucosa y una penicilina (para inhibir otra flora)
   (B) Reacción en cadena de polimerasa
   (C) Microscopia electrónica
   (D) Fijación de complemento en sueros de fases aguda y de convalecencia
9. Un niño de 13 años presenta infección por *Mycoplasma pneumoniae.* ¿Cuál es el peligro de que se infecten otros miembros de su familia?
   (A) Ninguno; es un trastorno de transmisión sexual
   (B) 1 a 3%
   (C) 10 a 15%
   (D) 20 a 40%
   (E) 50 a 90%
10. Un varón de 19 años presenta tos y fiebre. En la radiografía de tórax se identifica consolidación del lóbulo inferior izquierdo. Se plantea el diagnóstico de neumonía. De las bacterias siguientes, ¿cuál es la causa frecuente de neumonía de origen comunitario?
    (A) *Legionella pneumophila*
    (B) *Chlamydia pneumoniae*
    (C) *Streptococcus pneumoniae*
    (D) *Mycoplasma pneumoniae*
    (E) Todas las anteriores

Respuestas

1. B	4. E	7. C	10. E
2. E	5. E	8. D	
3. C	6. C	9. E	

BIBLIOGRAFÍA

Mycoplasma diseases. Vol 2, Part III, Section D. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, et al (editors) Elsevier, 2010.

Razin S, Yogev D, Naot Y: Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. Microbiol Mol Biol Rev 1998;62:1094.

Waites KB, Taylor-Robinson D: *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.



CAPÍTULO

26

Rickettsia y Ehrlichia

GENERALIDADES

Los microorganismos de la familia Rickettsiaceae que son patógenos para el hombre son bacterias pequeñas de los géneros *Rickettsia, Orientia, Coxiella* y *Ehrlichia*. Son parásitos intracelulares estrictos y, con excepción de la fiebre Q, son transmitidos al ser humano por artrópodos. Muchas rickettsias se transmiten por vía transovárica en el artrópodo, que sirve como vector y reservorio. Las rickettsiosis, con excepción de la fiebre Q y la ehrlichiosis, se manifiestan con fiebre, exantema y vasculitis. Se clasifican según sus características clínicas, aspectos epidemiológicos y características inmunitarias (cuadro 26-1).

Propiedades de las rickettsias

Las rickettsias son cocobacilos pleomórficos con aspecto de varillas cortas (0.3 × 1 a 2 μm) o de cocos (0.3 μm de diámetro). No se tiñen bien con colorante de Gram pero se observan fácilmente bajo el microscopio de luz cuando se tiñen con colorante de Giemsa, colorante de Gimenez, naranja acridina y otras tinciones.

Las rickettsias crecen fácilmente en sacos vitelinos de huevos con embrión. Es posible obtener preparaciones puras de rickettsias para emplearlas en pruebas de laboratorio por medio de la centrifugación diferencial de suspensiones de saco vitelino. Muchas cepas de rickettsia también crecen en cultivo celular, donde el intervalo de generación es de 8 a 10 h a 34°C. Por razones de bioseguridad, las rickettsias sólo se deben aislar en laboratorios de referencia.

Las rickettsias poseen paredes celulares gramnegativas con ácido murámico que contiene peptidoglucano y ácido diaminopimélico. Los grupos del tifus y las fiebres exantemáticas contienen lipopolisacárido. En las paredes celulares contienen proteínas de superficie OmpA y OmpB, que son importantes para la respuesta inmunitaria humoral y proporcionan la base para la serotipificación.

Las rickettsias crecen en distintas partes de las células. Las del grupo del tifus suelen encontrarse en el citoplasma; las del grupo de fiebres exantemáticas en el núcleo. *Coxiella* crece sólo en vacuolas citoplasmáticas.

La proliferación de las rickettsias aumenta en presencia de sulfonamidas y las rickettsiosis son más graves con estos fármacos. La tetraciclina y el cloranfenicol inhiben la proliferación de las rickettsias y en ocasiones son eficaces desde el punto de vista terapéutico.

La mayor parte de las rickettsias sobrevive durante periodos muy cortos fuera del vector u hospedador. Son destruidas rápidamente por el calor, la desecación y los bactericidas químicos. Las heces fecales secas de los piojos infectados contienen *Rickettsia prowazekii* infecciosa durante varios meses a temperatura ambiente. *Coxiella burnetii*, que causa la fiebre Q, es la rickettsia más resistente a la desecación. Este microorganismo sobrevive a la pasteurización a 60°C durante 30 min y puede sobrevivir durante varios meses en heces fecales o leche seca. La razón más probable es que *C. burnetii* forma estructuras similares a endosporas.

Antígenos de rickettsia y serología

Para detectar rickettsias en garrapatas y fragmentos de tejido se utilizan pruebas directas con anticuerpos inmunofluorescentes. Estas pruebas son más útiles para detectar *R. rickettsii* en biopsia de piel para ayudar al diagnóstico de fiebre de las Montañas Rocosas; sin embargo, muy pocos laboratorios de referencia llevan a cabo esta prueba.

En cualquier rickettsiosis, la evidencia serológica de la infección aparece después de la segunda semana de la enfermedad. Por lo tanto, las pruebas serológicas sólo son útiles para confirmar el diagnóstico, que se basa en los datos clínicos (es decir, fiebre, cefalea, exantema) y la información epidemiológica (p. ej., mordedura de garrapata). El tratamiento de las enfermedades potencialmente graves, como la fiebre de las Montañas Rocosas y el tifus, se debe instituir antes de la seroconversión.

Se han utilizado diversas pruebas serológicas para diagnosticar las rickettsiosis. La mayor parte se lleva a cabo de manera exclusiva en laboratorios de referencia. Existen equipos comerciales de antígenos para pruebas de **fijación de complemento** destinados al diagnóstico de fiebre Q y pruebas de **inmunofluorescencia indirecta**, aglutinación con látex e inmunoanálisis enzimático para diagnosticar fiebre de las Montañas Rocosas. Los reactivos para otras pruebas se preparan sólo en instituciones de salud pública y otros laboratorios de referencia. Quizá el método más utilizado es la técnica indirecta de anticuerpos fluorescentes por la disponibilidad de reactivos y la facilidad con la que se puede llevar a cabo. Esta prueba es relativamente sensible, necesita poco antígeno y se utiliza para detectar IgM e IgG. Las rickettsias parcialmente purificadas provenientes del material infectado del saco vitelino se someten a pruebas con diluciones del suero del paciente. Los anticuerpos reactivos se detectan con una globulina antihumana marcada con fluores-

CUADRO 26-1 Rickettsiosis y Ehrlichiosis

Grupo	Microorganismo	Enfermedad	Distribución geográfica	Vector	Reservorio mamífero	Cuadro clínico	Pruebas diagnósticas
Grupo del tifus	*Rickettsia prowazekii*	Tifus epidémico (tifus transmitido por piojos), enfermedad de Brill-Zinsser	Mundial: Sudamérica, África, Asia, Norteamérica	Piojo	Seres humanos	Fiebre, escalosfríos, mialgias, cefalea, exantema (sin escaras), grave si se deja sin tratamiento	Serología
	Rickettsia typhi	Tifus murino, tifus endémico, tifus transmitido por pulgas	Mundial (focos pequeños)	Pulga	Roedores	Fiebre, cefalea, mialgia, exantema (sin escaras); la enfermedad es más leve que otros tifus epidémicos	Serología
Grupo del tifus de los matorrales	*Orientia tsutsugamushi*	Tifus de los matorrales	Asia, Pacífico sur, norte de Australia	Ácaro	Roedores	Fiebre, cefalea, exantema (50% con escaras), linfadenopatía, linfocitos atípicos	Serología
Grupo de la fiebre de las Montañas Rocosas[b]	*Rickettsia rickettsii*	Fiebre exantemática americana	Hemisferio occidental (Estados Unidos, Sudamérica)	Garrapata[c]	Roedores, perros	Fiebre, cefalea, exantema (sin escaras), numerosas manifestaciones generalizadas	FA directos de rickettsias en los tejidos; serología
	Rickettsia akari	Rickettsiosis vesiculosa	Estados Unidos, Corea, Rusia, Sudamérica	Ácaro[c]	Ratones	Enfermedad leve, fiebre, cefalea, exantema vesicular (escaras)	Serología
	Rickettsia australis	Tifus por garrapata de Queensland	Australia	Garrapata[c]	Roedores, marsupiales	Fiebre, exantema de tronco y miembros (escaras)	Serología
	Rickettsia conorii	Rickettsiosis exantemática de Conor, fiebre exantemática israelí, fiebre por garrapata sudafricana, tifus por garrapata africana (Kenia), tifus por garrapata India	Países del Mediterráneo, África, Medio Oriente, India	Garrapata[c]	Roedores, perros	Fiebre, cefalea, exantema, "mancha negra" (escaras)	FA directos de rickettsias en los tejidos insensibles; serología
	Rickettsia sibirica	Tifus por garrapata siberiana (tifus por garrapata del norte de Asia)	Siberia, Mongolia	Garrapata[c]	Roedores	Fiebre, exantema (escara)	Serología
Fiebre Q	*Coxiella burnetii*	Fiebre Q	Mundial	Aérea, fómite, garrapata	Ganado bovino, vacuno, caprino, otros	Cefalea, fiebre, fatiga, neumonía (sin exantema); en ocasiones complicaciones mayores	CF positiva para antígenos de las fases I, II
Ehrlichias	*Ehrlichia chaffeensis*	Ehrlichiosis monocítica humana	Región surcentral, suroriental y occidental de Estados Unidos	Garrapata	Venados, perros, seres humanos	Fiebre cefalea, leucocitos atípicos	Inclusiones en los monocitos circulantes; FA indirectos para anticuerpos
	Neorickettsia sennetsu	Ehrlichiosis monocítica humana	Japón, Malasia	Pescado infectado por trematodos	Mamíferos	Fiebre, cefalea, leucocitos atípicos	Inclusiones en granulocitos; FA directos para anticuerpos
	Anaplasma phagocytophilum	Anaplasmosis granulocítica humana	Regiones medio oeste del norte, noroeste y costa oeste de Estados Unidos y Europa	Garrapata	Ratones, otros mamíferos	Fiebre, cefalea, mialgias	Inclusiones en granulocitos; FA indirectos para anticuerpos
	Ehrlichia ewingii	Ehrlichiosis granulocítica humana	Región del medio oeste de Estados Unidos	Garrapata	Perros	Fiebre, cefalea, mialgias	Inclusiones en granulocitos; FA indirectos para anticuerpos

[a]CF, fijación del complemento; FA, anticuerpos fluorescentes.
[b]Otras especies de rickettsias en el grupo de fiebre de las Montañas Rocosas que infectan al ser humano son *R. africae*, *R. japonica*, *R. honei* y *R. slovaca*.
[c]También sirve como artrópodo reservorio conservando a las rickettsias por transmisión transovárica.

ceína. Los resultados indican la presencia de anticuerpos parcialmente específicos contra una especie, pero también se observan reacciones cruzadas.

Histopatología

Las rickettsias, con excepción de *C. burnetii*, se multiplican en las células endoteliales de los vasos sanguíneos pequeños y generan vasculitis. Las células se edematizan y necrosan; el bazo se trombosa, rompe y necrosa. Las lesiones vasculares son evidentes en la piel, pero también ocurre vasculitis en muchos órganos y al parecer ésta constituye la base de las alteraciones hemostáticas. Se acompaña de coagulación intravascular diseminada y obstrucción vascular. En el cerebro, varios grupos de leucocitos polimorfonucleares y macrófagos se alojan en los vasos sanguíneos de la materia gris y se denominan nódulos tíficos. El corazón exhibe lesiones similares en los vasos sanguíneos y algunas veces las lesiones se extienden hasta otros órganos.

Inmunidad

En cultivos celulares de macrófagos, las rickettsias son fagocitadas y se multiplican dentro de la célula incluso en presencia de anticuerpos. La adición de linfocitos provenientes de animales inmunes detiene esta replicación *in vitro*. En el ser humano, la infección confiere inmunidad parcial a la reinfección proveniente de una fuente externa, pero ocurren recaídas (véase enfermedad de Brill-Zinsser, más adelante).

Manifestaciones clínicas

Con excepción de la fiebre Q, en la que no existen lesiones cutáneas, las rickettsiosis se caracterizan por fiebre, cefalea, malestar general, postración, exantema cutáneo y hepatoesplenomegalia.

A. Grupo del tifus

1. Tifus epidémico (*Rickettsia prowazekii*). En este trastorno, la infección generalizada y la postración son pronunciadas y la fiebre dura unas dos semanas. Esta enfermedad es más grave y a menudo letal en los pacientes mayores de 40 años de edad. Durante la epidemia, el índice de mortalidad es de 6 a 30%.

2. Tifus endémico (*Rickettsia typhi*). El cuadro clínico comparte muchas de las características del tifus epidémico, pero es más leve y rara vez resulta letal con excepción de los ancianos.

3. Tifus de los matorrales (*Orientia tsutsugamushi*). Desde el punto de vista clínico esta enfermedad es similar al tifus epidémico. Una característica es la escara, úlcera en sacabocado cubierta por una costra ennegrecida que señala el sitio de la mordedura de la garrapata. Con frecuencia se acompaña de linfadenopatía generalizada y linfocitosis. Las lesiones cardiacas y cerebrales en ocasiones son graves.

B. Grupo de fiebres exantemáticas

El cuadro clínico del grupo de las fiebres exantemáticas es similar al del tifus pero, a diferencia del exantema de otras rickettsiosis, el exantema del grupo de las fiebres exantemáticas suele aparecer primero en las extremidades, se desplaza en sentido centrípeto y abarca palmas de las manos y plantas de los pies. Algunas enfermedades como la fiebre exantemática brasileña son infecciones graves; otras, como la rickettsiosis exantemática de Conor, son leves. El índice de mortalidad varía de manera considerable. En la fiebre de las Montañas Rocosas sin tratamiento por lo general es mucho mayor entre los ancianos (hasta de 50%) que en los jóvenes o niños.

La rickettsiosis variceliforme es una enfermedad leve con un exantema similar al de la varicela. Casi una semana antes de la fiebre aparece una pápula dura y roja en el sitio de la mordedura de la garrapata y se convierte en una vesícula profunda que a su vez forma una escara negra.

C. Fiebre Q

Esta enfermedad es más similar a la influenza, neumonía no bacteriana, hepatitis o encefalopatía que al tifus. La concentración de anticuerpos específicos contra *C. burnetii* se eleva, fase II. Se transmite por la inhalación de polvo contaminado con rickettsias provenientes de la placenta, heces fecales secas, orina o leche o bien por aerosoles en los rastros.

En algunos casos la fiebre Q crónica se acompaña de endocarditis infecciosa. El hemocultivo en busca de bacterias es negativo y la concentración de anticuerpos contra *C. burnetii* suele estar elevada, fase I. Casi todos los pacientes padecen anomalías valvulares previas. El tratamiento continuo con tetraciclinas durante varios meses, en ocasiones con sustitución valvular, ofrece una supervivencia prolongada.

Datos de laboratorio

Desde el punto de vista técnico es difícil aislar a las rickettsias y su utilidad para el diagnóstico es limitada. Además, es peligroso. Se inocula sangre completa (o un coágulo de sangre emulsionado) a cobayos, ratones o huevos. Las rickettsias se recuperan con más frecuencia en la sangre que se extrae poco después de iniciada la enfermedad.

Cuando no se demuestra la presencia de esta enfermedad (fiebre, edema escrotal, necrosis hemorrágica y muerte) en los cobayos, se obtiene suero para realizar pruebas de anticuerpos y establecer si el animal ha padecido una infección oculta.

Algunas rickettsias infectan ratones y éstas también se observan en los frotis de exudado peritoneal. En la fiebre de las Montañas Rocosas, las biopsias de piel que se obtienen entre el cuarto y octavo días de la enfermedad, revelan la presencia de rickettsias por medio de tinción inmunofluorescente.

Las pruebas serológicas más utilizadas son la inmunofluorescencia indirecta y la fijación del complemento (véase antes). Es necesario demostrar que los anticuerpos se elevan durante la evolución de la enfermedad. En la fiebre de las Montañas Rocosas, la respuesta de los anticuerpos empieza después de la segunda semana de la enfermedad.

Se ha utilizado la reacción en cadena de la polimerasa para ayudar a diagnosticar fiebre de las Montañas Rocosas, otras enfermedades del grupo de las fiebres exantemáticas, tifus murino, tifus de los matorrales y fiebre Q. La sensibilidad de este método para la fiebre de las Montañas Rocosas es de casi 70%, similar a la de la biopsia de piel con inmunocitología.

Tratamiento

Las tetraciclinas son eficaces siempre y cuando se instituyan en una etapa incipiente; se administran diariamente por vía oral y se prolongan durante tres a cuatro días después de la deferves-

cencia. En los pacientes graves, las primeras dosis se administran por vía intramuscular. El cloranfenicol también es efectivo.

Las sulfonamidas agravan la enfermedad y están contraindicadas.

Los anticuerpos no eliminan a las rickettsias del cuerpo, pero suprimen su proliferación. La recuperación depende en parte de los mecanismos inmunitarios del paciente.

Epidemiología

Diversos artrópodos, en especial garrapatas y ácaros, albergan microorganismos similares a rickettsias en las células que revisten el aparato digestivo. Muchos de estos microorganismos no son patógenos para el ser humano. Los ciclos vitales de las distintas rickettsias varían. *R. prowazekii* tiene un ciclo vital en el hombre y en el piojo del ser humano (*Pediculus humanus corporis* y *Pediculus humanus capitis*). El piojo adquiere el microorganismo al morder a personas infectadas y lo transmite al evacuar sobre la piel de otra persona. Cuando un piojo muerde, defeca al mismo tiempo. La rickettsia excretada en las heces fecales penetra en la piel cuando la persona se rasca el área de la mordedura. Como resultado de la infección, el piojo muere pero el microorganismo permanece viable durante cierto tiempo en sus heces fecales secas. Las rickettsias no se transmiten de una generación de piojos a otra. La desparasitación de gran parte de la población con insecticidas ha permitido contener la epidemia de tifus.

La **enfermedad de Brill-Zinsser** es una recrudescencia de un tifus antiguo. Las rickettsias persisten durante varios años en los ganglios linfáticos del individuo sin que se manifiesten síntomas. Las rickettsias aisladas en estos casos se comportan como la *R. prowazekii* clásica; esto sugiere que el hombre mismo es el reservorio de estas rickettsias del tifus epidémico. El tifus epidémico está muy relacionado con las guerras y la higiene personal deficiente, lo que facilita la multiplicación de los piojos. Si esto ocurre en el momento en el que recrudece un tifus antiguo, surge una epidemia. La enfermedad de Brill-Zinsser ocurre en ciertas poblaciones donde existe tifus y además en personas que emigran desde estas regiones hasta otras zonas donde no existe la enfermedad. Las características serológicas permiten distinguir fácilmente a la enfermedad de Brill del tifus epidémico primario. Los anticuerpos surgen antes y corresponden a IgG en lugar de la IgM detectada después de la infección primaria. Alcanzan su punto máximo hacia el décimo día de la enfermedad. Esta respuesta precoz de anticuerpos IgG y la evolución benigna de la enfermedad sugieren que aún existe inmunidad parcial por la infección primaria.

En Estados Unidos, *R. prowazekii* tiene un reservorio fuera del hombre en la ardilla voladora del sur, *Glaucomys volans.* En las regiones donde esta ardilla es oriunda (desde el sur de Maine hasta Florida y el centro de Estados Unidos), han ocurrido infecciones en seres humanos que han sido mordidos por los ectoparásitos de este roedor.

El reservorio de *R. typhi* es la rata, que padece una infección oculta y prolongada. La pulga de la rata transporta a la rickettsia entre roedores y en ocasiones de roedores a seres humanos, los que padecen tifus endémico. Algunas veces la pulga de gato sirve como vector. En el tifus endémico, la pulga no puede transmitir la rickettsia por vía transovárica.

El reservorio verdadero de *O. tsutsugamushi* es el ácaro que infesta a los roedores. Las rickettsias permanecen en las ratas durante más de un año después de la infección. Los ácaros transmiten la infección por vía transovárica. En ocasiones, los ácaros o pulgas infectados muerden a los seres humanos generando tifus de los matorrales. Las rickettsias permanecen en el ciclo ácaro-rata-ácaro en los matorrales o la vegetación secundaria de la selva que ha sustituido a la selva virgen en las regiones donde existen cultivos parciales. Estas zonas se infestan con ratas y ácaros trombicúlidos.

R. rickettsii habita en las garrapatas sanas de la madera (*Dermacentor andersoni*) y se transmite por vía transovárica. Las garrapatas infectadas en la región occidental de Estados Unidos en ocasiones muerden a algunos vertebrados como roedores, venados y seres humanos. Para transmitir la enfermedad, la garrapata que transporta a las rickettsias debe estar llena de sangre, puesto que de esta manera aumenta el número de rickettsias en la garrapata. Así, deben transcurrir entre 45 y 90 min entre el momento en el que la garrapata se adhiere y el contagio. En la región occidental de Estados Unidos, la garrapata de perro *Dermacentor variabilis* transmite la fiebre de las Montañas Rocosas. Los perros son hospedadores de estas garrapatas y reservorios de la infección. Otro reservorio son los roedores pequeños. La mayor parte de los casos de fiebre de las Montañas Rocosas en Estados Unidos ocurre actualmente en el este y sureste.

Los vectores de *R. akari* son ácaros hematófagos de la especie *Allodermanyssus sanguineus*. Estos ácaros habitan en los ratones (*Mus musculus*) atrapados en viviendas de Estados Unidos donde ha ocurrido rickettsiosis variceliforme. Las rickettsias se transmiten por vía transovárica en el ácaro. Así, el ácaro actúa como reservorio verdadero y además vector. También se ha aislado *R. akari* en Corea.

C. burnetii habita en garrapatas, que lo transmiten al ganado bovino, caprino y vacuno. Los individuos que trabajan en rastros y plantas productoras de lana y piel han contraído la enfermedad al manipular tejidos de animales infectados. *C. burnetii* se transmite a través de las vías respiratorias y no por la piel. En ocasiones las vacas padecen la infección crónica en las ubres. En estos casos, las rickettsias son excretadas en la leche pero rara vez son transmitidas al ser humano durante el consumo de leche no pasteurizada.

El ganado bovino infectado excreta *C. burnetii* en las heces fecales y orina y el microorganismo contamina copiosamente su piel y capa de lana. Las placentas del ganado vacuno, bovino, caprino y los gatos contienen rickettsias y durante el parto se generan aerosoles contagiosos. La tierra se contamina por cualquiera de las fuentes antes mencionadas y la inhalación del polvo infectado provoca la infección en seres humanos y ganado. Se ha propuesto que las endosporas producidas por *C. burnetii* contribuyen a su persistencia y diseminación. En Estados Unidos, la infección por *Coxiella* se ha extendido en el ganado bovino y vacuno. *Coxiella* provoca endocarditis (con elevación en la concentración de anticuerpos contra *C. burnetii*, fase I) además de neumonitis y hepatitis.

Distribución geográfica

A. Tifus epidémico

Esta infección potencialmente mundial ha desaparecido en Estados Unidos, Gran Bretaña y Escandinavia. Aún existe en los Balcanes, Asia, África, México y los Andes de Sudamérica. En vista de su duración tan prolongada en los seres humanos como

infección latente (enfermedad de Brill-Zinsser), puede surgir y proliferar rápidamente en el ambiente adecuado, como sucedió en Europa durante la Segunda Guerra Mundial por la higiene deficiente de la comunidad.

B. Tifus murino endémico

Esta enfermedad existe en todo el mundo, en especial en las regiones donde abunda la infestación por ratas. Existe en las mismas regiones que el tifus epidémico y el tifus de los matorrales y en ocasiones se confunde con éstos.

C. Tifus de los matorrales

Esta infección se observa en el Lejano Oriente, en especial en Myanmar (Burma), India, Sri-Lanka, Nueva Guinea, Japón y Taiwán. La fase de larva (nigua) de diversos ácaros trumbicúlidos sirve como reservorio, por transmisión transovárica, y como vector para la infección de seres humanos y roedores.

D. Grupo de fiebres exantemáticas

Estas infecciones también son mundiales, pero como regla exhiben algunas diferencias epidemiológicas e inmunitarias en diversas regiones. En este grupo es frecuente la transmisión por una garrapata de la familia Ixodidae. Algunas de las enfermedades que pertenecen a este grupo son la fiebre de las Montañas Rocosas y las fiebres exantemáticas colombiana, brasileña y mexicana; la rickettsiosis exantemática de Conor (botonosa) y las rickettsiosis transmitidas por garrapatas sudafricanas y de Kenia; el tifus por garrapata del norte de Queensland y la rickettsiosis transmitida por garrapatas del norte de Asia.

E. Rickettsiosis variceliforme

Esta enfermedad se ha observado en personas que viven en casas de apartamentos en el norte de Estados Unidos. Sin embargo, también ocurre en Rusia, África y Corea.

F. Fiebre Q

Este trastorno se ha observado en todo el mundo, pero principalmente en personas que tienen que ver con ganado caprino, bovino, vacas lecheras o gatas parturientas. Ha atraído atención por los brotes observados en centros veterinarios y médicos donde un gran número de personas tuvo contacto con animales que despedían *Coxiella.*

Frecuencia estacional

Las epidemias de tifus son más frecuentes durante las épocas de frío y alcanzan su punto máximo en el invierno y final de la primavera. Probablemente esto refleja el hacinamiento, la escasez de combustible y la higiene personal deficiente, todos los cuales facilitan la infestación por piojos.

Las rickettsiosis que deben ser transmitidas al hospedador humano a través de un vector alcanzan su punto máximo cuando predomina más el vector, durante los meses de verano y otoño.

Contención

Para contener esta epidemia es necesario romper la cadena de la infección por medio del tratamiento con antibióticos y la vacunación de los pacientes siempre que sea posible. Los pacientes con alguna rickettsiosis que no tienen ectoparásitos no son contagiosos ni transmiten la infección.

A. Prevención de la transmisión rompiendo la cadena de la infección

1. Tifus epidémico. Desparasitación con insecticida.

2. Tifus murino. Acondicionar los edificios para que sean a prueba de ratas y utilizar venenos contra ratas.

3. Tifus de los matorrales. Eliminar en los campamentos la vegetación secundaria en la que pudieran habitar ratas y ácaros.

4. Fiebres exantemáticas. Se utilizan medidas similares para las fiebres exantemáticas; limpiar la tierra infestada; profilaxis personal en forma de ropa protectora como botas, calcetines sobre los pantalones, repelentes de ácaros; y retirar con frecuencia las garrapatas adheridas.

5. Rickettsiosis vesiculosa. Eliminar roedores y sus parásitos en las viviendas.

B. Prevención de la transmisión de la fiebre Q por medio de la pasteurización correcta de la leche

Las recomendaciones actuales para la pasteurización con "alta temperatura y tiempo corto" a 71.5°C durante 15 s es suficiente para destruir a la *Coxiella* viable.

C. Prevención por medio de vacunación

No existe vacuna contra la fiebre exantemática americana, otras enfermedades del grupo de las fiebres exantemáticas ni contra las enfermedades del grupo del tifus. Se está investigando una vacuna contra *C. burnetii* elaborada a partir de sacos vitelinos de huevo. Esta vacuna se ha utilizado en empleados de laboratorio que trabajan con *C. burnetii* vivos.

EHRLICHIOSIS

Las ehrlichias que causan enfermedades en los seres humanos se han clasificado en un número limitado de especies, con base en gran parte en el análisis de la secuencia de genes de rRNA. Esta clasificación es: *Ehrlichia chaffeensis,* que causa ehrlichiosis monocítica humana; *Ehrlichia ewingii*, que causa ehrlichiosis granulocítica humana; *Anaplasma phagocytophilum*, que causa anaplasmosis granulocítica humana; y *Neorickettsia sennetsu,* que causa ehrlichiosis monocítica humana. Los mismos géneros comprenden otras especies que al parecer infectan animales pero no seres humanos. Los microorganismos patógenos para el ser humano en el grupo tienen sus reservorios en ciertos animales, a los que también pueden enfermar.

El grupo ehrlichia está formado por bacterias intracelulares estrictas que se agrupan desde el punto de vista taxonómico con las rickettsias. Sus vectores son garrapatas, pero *N. sennetsu* se puede transmitir por medio de la ingestión de pescado infectado con un trematodo. Véase el cuadro 26-1.

Propiedades de *Ehrlichia*

Las ehrlichias son bacterias gramnegativas pequeñas (0.5 µm). Infectan a los leucocitos circulantes, donde se multiplican dentro de vacuolas fagocíticas formando aglomerados de ehrlichia llamados **mórulas**, palabra que se deriva del latín que significa mora. *Ehrlichia* y *Chlamydia* (cap. 27) son similares en cuanto a que viven en vacuolas intracelulares. Sin embargo, las ehrlichias son como rickettsias en el sentido de que pueden sintetizar ATP; *Chlamydia* no lo hace.

Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas de la ehrlichiosis en el hombre son inespecíficas: fiebre, escalosfríos, cefalea, mialgias, náusea o vómito, anorexia y adelgazamiento. Estas manifestaciones son muy similares a las de la fiebre exantemática americana sin el exantema. *E. chaffeensis* con frecuencia y *A. phagocytophilum* con menor frecuencia originan una enfermedad grave o letal. Los estudios de seroprevalencia sugieren que la ehrlichiosis subclínica es bastante frecuente.

Datos de laboratorio

El diagnóstico se confirma observando a las mórulas típicas en los leucocitos. También se pueden utilizar pruebas indirectas con anticuerpos fluorescentes para confirmar el diagnóstico. Se miden los anticuerpos contra *E. chaffeensis* y *A. phagocytophilum. E. chaffeensis* también se utiliza como sustrato para *E. ewingii*, puesto que ambas especies comparten antígenos. La seroconversión de <1:64 a ≥1:128 o un aumento cuatro veces mayor o más en la concentración confirma el diagnóstico de ehrlichiosis monocitotrópica humana en el paciente con datos clínicos compatibles.

Se han descrito múltiples métodos para detectar por medio de PCR la presencia de ehrlichia en sangre anticoagulada con EDTA. También se utiliza el cultivo con diversas líneas celulares. Tanto la PCR como el cultivo se llevan a cabo en laboratorios de referencia y en unos cuantos laboratorios comerciales.

Tratamiento

Las tetraciclinas, casi siempre en forma de doxiciclina, aniquilan a la ehrlichia y constituyen el tratamiento de elección. La rifampicina también es ehrlichicida.

Epidemiología y prevención

La frecuencia de ehrlichiosis en seres humanos se desconoce. En Oklahoma, que tiene la mayor frecuencia de fiebre exantemática americana, la ehrlichiosis monocitotrópica humana es al menos tan frecuente como fiebre de las Montañas Rocosas. Se cree que la frecuencia de ehrlichiosis granulocitotrópica humana es de 15 casos por 100 000 habitantes en la región medio-occidental de Oklahoma e incluso mayor en algunos países.

Más de 90% de los casos ocurre entre mediados de abril y octubre y más de 80% se observa en varones. La mayoría de los pacientes manifiesta haber tenido contacto con una garrapata el mes anterior al inicio de la enfermedad. Se han producido casos de ehrlichiosis monocitotrópica humana en más de 30 estados, principalmente en el centro, sur y sureste de Estados Unidos. Esta región corresponde al área de distribución de la garrapata estrella solitaria, *Amblyomma americanum.* Los casos de ehrlichiosis monocitotrópica humana en la región occidental de Estados Unidos, en Europa y África sugieren que otras garrapatas son vectores, como *D. variabilis.* En los estados del medio oeste, la costa este y la costa oeste de la Unión Americana, se han descrito casos de ehrlichiosis granulocitotrópica humana. Estas regiones corresponden a la distribución de las garrapatas vectores *Ixodes scapularis* e *Ixodes pacificus*, respectivamente.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Las mórulas (inclusiones celulares en los leucocitos), son características de cuál de las enfermedades siguientes
   (A) Paludismo por *Plasmodium falciparum* pero no por *Plasmodium malariae*
   (B) Dengue
   (C) Babesiosis
   (D) Ehrlichiosis
   (E) Loa loa
2. ¿Cuál de las afirmaciones siguientes sobre el tifus epidémico (por *Rickettsia prowazekii*) es más correcta?
   (A) La enfermedad ocurre principalmente en África subsahariana
   (B) Se transmite por garrapatas
   (C) El reservorio es el ratón
   (D) Desde el punto de vista histórico, esta enfermedad ocurre en época de prosperidad
   (E) En algunos casos, la enfermedad recrudece varios años después de la infección inicial
3. El fármaco más útil para el tratamiento de la ehrlichiosis es
   (A) Doxiciclina
   (B) Penicilina G
   (C) Trimetoprim-sulfametoxazol
   (D) Gentamicina
   (E) Nitrofurantoína
4. Los miembros de una familia en una casa dañada y sin calefacción en un país de Europa oriental manifestaron una enfermedad caracterizada por malestar general, cefalea, rigidez y fiebre. Se observó un exantema con manchas rojas de 2 a 6 mm en el tronco y luego en las extremidades de las personas. En algunos de ellos se acompañaba de tos. Un anciano, aunque enfermo, se encontraba mucho menos grave que los demás adultos. Los sujetos se hacinaban para mantenerse calientes; con frecuencia tenían piojos. ¿Cuál de las aseveraciones siguientes es la más correcta?
   (A) La enfermedad que padecían estos sujetos es frecuente en los estados de las Montañas Rocosas
   (B) El anciano había padecido tifus epidémico agudo hacía varios años y ahora se trataba de un tifus recrudescente
   (C) Las pulgas de los roedores que habitaban en la casa estaban diseminando *Rickettsia typhi*
   (D) El hospedador principal del piojo del cuerpo que infecta a los seres humanos es la rata
   (E) El tifus epidémico se puede prevenir por medio de una vacuna
5. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones sobre ehrlichia y ehrlichiosis es la más correcta?
   (A) Los perros y ratones son reservorios
   (B) Los mosquitos son los vectores
   (C) El tratamiento de elección es la ampicilina
   (D) El cultivo es un método adecuado para confirmar el diagnóstico
   (E) *Ehrlichia* se observa típicamente en los linfocitos
6. Un grupo de adolescentes urbanos visitó un rancho de ovejas en un estado grande del oeste por dos semanas. Durante su estancia, varias hembras parieron corderos para deleite de los adolescentes.

Unos 10 días después, tres de los adolescentes empezaron con una enfermedad similar a la gripe caracterizada por malestar general, tos y fiebre. En uno de ellos se observó un infiltrado en la radiografía de tórax que indicaba neumonía. Los tres adolescentes fueron tratados por distintos doctores, pero todos los médicos extrajeron sangre y la enviaron a los laboratorios del sector salud para que se realizaran pruebas serológicas. Las tres muestras fueron positivas para fiebre Q. Los investigadores de salud pública establecieron que estos adolescentes habían estado en un rancho de ganado ovino. Cuando los investigadores interrogaron al personal del rancho, les informaron que no había fiebre Q en ese sitio y que ninguno de los que vivía en el rancho había estado enfermo. La explicación más probable para la enfermedad de los adolescentes y la ausencia de enfermedad en el rancho es

(A) Que no había fiebre Q en el rancho y que la adquirieron en otro lugar
(B) Que las personas del rancho habían sido vacunadas contra la fiebre Q
(C) Que los adolescentes adquirieron la fiebre Q en el rancho y las personas que vivían en el mismo habían padecido previamente la enfermedad y ahora eran inmunes
(D) Que los adolescentes padecían otras enfermedades y que el resultado serológico positivo para fiebre Q era independiente
(E) Que el laboratorio del sector salud había cometido errores en las pruebas serológicas de fiebre Q

7. Un deportista maduro que vivía en Oklahoma salió a caminar por el área boscosa y la maleza cercana a su hogar. La siguiente mañana encontró y retiró una garrapata grande (>1 cm) en el tercio superior del brazo. Una semana después empezó con fiebre y malestar general graduales. Ahora busca atención médica puesto que le preocupa tener una infección transmitida por la garrapata. ¿Cuál de las enfermedades siguientes es la que con mayor probabilidad se adquiere a través de una garrapata?
(A) Dengue
(B) Fiebre de las Montañas Rocosas
(C) Tifus
(D) Fiebre amarilla
(E) Paludismo

8. ¿Cuál de los fármacos siguientes no se debe utilizar en el tratamiento de la fiebre de las Montañas Rocosas (infección por *Rickettsia rickettsii*)?
(A) Trimetoprim-sulfametoxazol
(B) Cloranfenicol
(C) Doxiciclina

9. ¿Cuál de los siguientes se debe utilizar para prevenir la fiebre de las Montañas Rocosas (infección por *Rickettsia rickettsii*)?
(A) Vacuna con *Rickettsia rickettsii* atenuada
(B) Doxiciclina profiláctica
(C) Prevención de las mordeduras de garrapatas usando ropa protectora
(D) Desparasitación con insecticida

10. Una semana después de haber ido a cazar venados a una zona boscosa, un hombre de 33 años de edad empezó con fiebre de 39°C, cefalea y malestar general. En las 24 h siguientes manifestó náusea, vómito, dolor abdominal y diarrea. Al cuarto día apareció un exantema, al principio en las muñecas y tobillos y luego se extendió hasta los miembros superiores, tronco, palmas de las manos y plantas de los pies. Al principio el exantema era tipo macular, pero rápidamente se convirtió en maculopapular con algunas petequias centrales. Se diagnosticó fiebre de las Montañas Rocosas causada por *Rickettsia rickettsii*. ¿Cuál de las aseveraciones siguientes sobre la fiebre exantemática americana son correctas?
(A) Los vectores de *Rickettsia rickettsii* son garrapatas del género *Ixodes*
(B) Hacia el cuarto día de la enfermedad aparece un exantema
(C) *Rickettsia rickettsii* forma inclusiones en los monocitos
(D) La respuesta de anticuerpos del paciente no siempre aparece sino hasta la segunda semana de la enfermedad
(E) Esta enfermedad es más frecuente en los estados de las Montañas Rocosas

Respuestas

1. D	4. B	7. B	10. D
2. E	5. A	8. A	
3. A	6. C	9. C	

BIBLIOGRAFÍA

Olano JP, Aguero-Rosenfeld ME: *Ehrlichia, Anaplasma,* and related intracellular bacteria. In: *Manual of Clinical Microbiology,* 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.

Rickettsioses, ehrlichioses and Anaplasmosis Vol 2, Part III, Section E. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.



C A P Í T U L O

27

Clamidias

Las clamidias que infectan a los seres humanos se dividen en tres especies: *Chlamydia trachomatis, Chlamydia* (*Chlamydophila*) *pneumoniae* y *Chlamydia* (*Chlamydophila*) *psittaci* con base en su composición antigénica, inclusiones intracelulares, sensibilidad a la sulfonamida y tipo de enfermedad ocasionada. La separación del género *Chlamydia* en los géneros *Chlamydia* y *Chlamydophila* es controversial; en este capítulo las tres clamidias que son patógenas para el ser humano se consideran dentro del género *Chlamydia.* Otras clamidias infectan a los animales pero rara vez a los seres humanos. Todas las clamidias exhiben características morfológicas similares, comparten un grupo antigénico común y se multiplican en el citoplasma de las células del hospedador por medio de un ciclo vital característico. Las clamidias se pueden considerar bacterias gramnegativas que carecen de los mecanismos para la producción de energía metabólica y no pueden sintetizar ATP. Esto las limita a una existencia intracelular, donde la célula hospedadora elabora productos intermedios con abundante energía. Por lo tanto, las clamidias son parásitos intracelulares estrictos.

Ciclo de desarrollo

Las clamidias comparten un ciclo reproductivo común. La partícula infecciosa estable en el ambiente es una célula pequeña llamada **cuerpo elemental** o **EB** (*elementary body*). Mide casi 0.3 μm de diámetro (fig. 27-1) y tiene un nucleoide electrodenso. Las proteínas de la membrana del EB poseen grandes enlaces cruzados. Los EB tienen gran afinidad por las células epiteliales del hospedador y penetran en ellas con rapidez. Al parecer cuentan con numerosas adhesinas, receptores y mecanismos de entrada. Los proteoglucanos similares al sulfato de heparán en la superficie de *C. trachomatis* son factores que quizá medien la interacción inicial entre los EB y las células del hospedador. Otras adhesinas potenciales son la proteína principal de la membrana externa (**MOMP**, *major outer membrane protein*), la MOMP glucosilada y otras proteínas de superficie. Los mecanismos que se cree median la entrada a la célula del hospedador también son variados. Los EB por lo general se observan adheridos cerca de la base de las microvellosidades, donde son fagocitados por la célula hospedadora. Al parecer funcionan varios mecanismos: endocitosis mediada por receptores en agujeros revestidos por clatrina y pinocitosis a través de agujeros sin revestimiento. La fusión lisosómica es inhibida, lo cual crea un entorno protegido rodeado por la membrana alrededor de la clamidia. Poco después de entrar en la célula hospedadora, los puentes disulfuro de las proteínas de la membrana del EB ya no tienen enlaces cruzados y el EB se reorganiza para formar una estructura más grande llamada **cuerpo reticulado** o **RB** (*reticulate body*), que mide entre 0.5 y 1 μm (fig. 27-1) y carece de un nucleoide electrodenso. Dentro de la vacuola limitada por la membrana, el RB crece y se divide en repetidas ocasiones por medio de fisión binaria. Finalmente la vacuola se llena de cuerpos elementales derivados de cuerpos reticulados para formar una **inclusión** citoplasmática. Los EB recién formados abandonan la célula hospedadora e infectan a otras células. El ciclo de desarrollo tarda entre 24 y 48 h.

Estructura y composición química

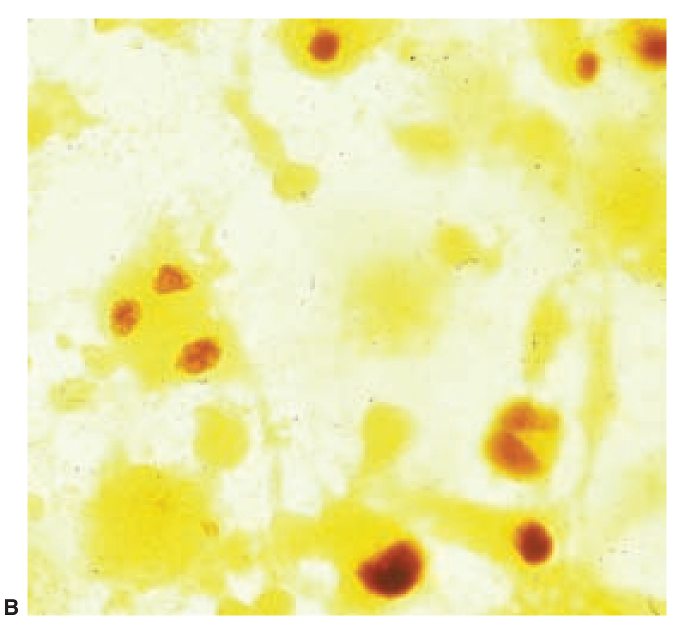
La pared celular externa de las clamidias es similar a la de las bacterias gramnegativas. Contiene lípidos relativamente abundantes. Es rígida pero no contiene un peptidoglucano bacteriano típico; sin embargo, el genoma de la clamidia contiene los genes necesarios para la síntesis de peptidoglucano. Las clamidias contienen proteínas que se unen a la penicilina que, al igual que otros fármacos que inhiben la transpeptidación del peptidoglucano bacteriano, inhibe la formación de la pared celular de la clamidia. Las lisozimas carecen de efectos sobre las paredes celulares de la clamidia. Al parecer no existe ácido *N*-acetilmurámico en las paredes celulares de la clamidia. Tanto los cuerpos elementales como los reticulados contienen DNA y RNA. Los cuerpos reticulados contienen cuatro veces más RNA que DNA, mientras que los cuerpos elementales contienen la misma cantidad de RNA que de DNA. En los cuerpos elementales, la mayor parte del DNA se concentra en el nucleoide electrodenso central. La mayor parte del RNA se encuentra en los ribosomas. El genoma circular de la clamidia (PM 7×10^8) es similar al de los cromosomas bacterianos.

Ya se ha establecido la secuencia de múltiples genomas de clamidias, lo que ha permitido conocer gran parte de la biología básica de estos microorganismos. Por ejemplo, las clamidias poseen un sistema de secreción tipo III, que les permite inyectar proteínas efectoras en la célula hospedadora como parte del proceso infeccioso.

Propiedades de tinción

Las clamidias tienen propiedades características de tinción (similares a las de las rickettsias). Los cuerpos elementales se ti-





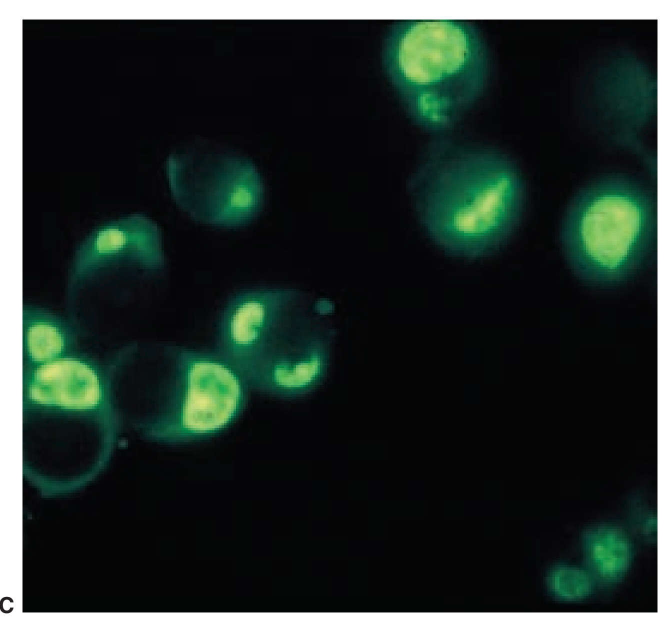


FIGURA 27-1 Clamidias. **A:** Microfotografía electrónica de un corte delgado de *Chlamydia* en diversas fases del desarrollo. (EB, partículas de cuerpo elemental con paredes celulares [inserto]; RB, cuerpo reticulado.) **B:** *Chlamydia trachomatis* cultivada en céulas de McCoy y teñida con yodo. Las células de McCoy se tiñen de color amarillo claro en el fondo. Las inclusiones intracitoplásmicas con abundante glucógeno de *Chlamydia trachomatis* se tiñen de color café oscuro. **C:** Crecimiento similar de *Chlamydia trachomatis* en células de McCoy teñidas con un anticuerpo marcado con fluoresceína contra un antígeno de especie de clamidia. Las inclusiones intracitoplásmicas de clamidia se tiñen de color amarillo verdoso brillante. Se observan además los bosquejos claros de las células de McCoy. (Por cortesía de J. Schachter.)

ñen de color púrpura con colorante de Giemsa, a diferencia del color azul que adquiere el citoplasma de la célula hospedadora. Los cuerpos reticulados más grandes y no infecciosos se tiñen de color azul con colorante de Giemsa. La tinción de Gram de la clamidia es negativa y variable y carece de utilidad para identificar a estos microorganismos. Las partículas de clamidia y las inclusiones brillan con inmunofluorescencia, con anticuerpos específicos para grupo, específicos para especie o específicos para cada serotipo.

Las inclusiones intracelulares maduras y formadas de *C. trachomatis* son formaciones compactas cerca del núcleo que se tiñen de color púrpura oscuro con colorante de Giemsa a causa de las partículas maduras compactas. Si se les tiñe con solución diluida de yodo Lugol, algunas de las inclusiones de *C. trachomatis* (pero no de *C. pneumoniae* o *C. psittaci*) son de color café a causa de la matriz de glucógeno que rodea a las partículas (fig. 27-1). Las inclusiones de *C. psittaci* son cúmulos intracitoplásmicos difusos.

Antígenos

Las clamidias poseen **antígenos compartidos específicos de grupo (género)**. Éstos son lipopolisacáridos termoestables con ácido 2-ceto-3-desoxioctanoico como componente inmunodominante. Los anticuerpos contra estos antígenos específicos de género se detectan por medio de **fijación del complemento** (CF, *complement fixation*) e inmunofluorescencia. Los **antígenos específicos de especie o de serotipo** son básicamente proteínas de la membrana externa. El mejor método para detectar antígenos específicos es la **inmunofluorescencia**, en especial la que utiliza anticuerpos monoclonales. Los antígenos específicos son compartidos por un número limitado de clamidias, pero un solo microorganismo puede contener varios antígenos específicos. Existen cuando menos 18 **serotipos** de *C. trachomatis;* éstos comprenden a A, B, Ba, C-K y L1-L3. La **CF** y la **microinmunofluorescencia (MIF)** permiten identificar diversos serotipos de *C. psittaci.* Se ha descrito un solo serotipo de *C. pneumoniae.*

Crecimiento y metabolismo

Las clamidias necesitan un ambiente intracelular porque no pueden sintetizar ATP y dependen de la célula hospedadora para satisfacer sus necesidades energéticas. Las clamidias crecen en cultivos de diversas líneas de células eucariotas. Con frecuencia se utilizan células de McCoy tratadas con cicloheximida para cultivar clamidias; *C. pneumoniae* crece mejor en células HL o HEp-2. Todas las variedades de clamidia proliferan en embriones de huevo, en particular en el saco vitelino.

Algunas clamidias tienen metabolismo endógeno como otras bacterias. Liberan CO_2 a partir de glucosa, piruvato y glutamato. Además contienen deshidrogenasas. Sin embargo, necesitan a la célula hospedadora para llevar a cabo sus actividades biosintéticas. Numerosos antibacterianos inhiben la proliferación de la clamidia. Los inhibidores de la pared celular como penicilinas y cefalosporinas provocan la formación de variedades con defectos morfológicos pero no son eficaces en las enfermedades clínicas. Los inhibidores de la síntesis de proteínas (tetraciclinas, eritromicina) son efectivos en la mayor parte de las infecciones clínicas. Las cepas de *C. trachomatis* sintetizan folatos y son inhibidas por las sulfonamidas. Los aminoglucósidos no son inhibidores.

Características de la relación hospedador-parásito

Una característica biológica destacada de la clamidosis es el equilibrio que a menudo alcanzan el hospedador y el parásito, con lo que la infección persiste durante un tiempo prolongado. En el hospedador natural de estos microorganismos, la regla es la infección subclínica y la excepción es la enfermedad manifiesta. Por lo general la enfermedad es resultado de la diseminación de una especie a otra (p. ej., de aves a seres humanos, como la psitacosis). El hospedador infectado constantemente produce anticuerpos contra diversos antígenos de las clamidias. Estos anticuerpos tienen un efecto protector mínimo contra la reinfección. El microorganismo persiste en presencia de una concentración elevada de anticuerpos. El tratamiento con algún antimicrobiano eficaz (p. ej., tetraciclina) durante un periodo prolongado algunas veces elimina a la clamidia del hospedador infectado. Durante la etapa incipiente, el tratamiento intensivo suprime la formación de anticuerpos. Sin embargo, el tratamiento con dosis moderadas de antimicrobianos en una etapa tardía suprime la enfermedad pero permite que el microorganismo infectante persista en los tejidos.

La vacunación del ser humano para protegerlo contra la reinfección ha fracasado. La infección previa y la vacunación cuando mucho tienen como resultado una enfermedad menos grave al momento que el individuo se reinfecta, pero en ocasiones la hipersensibilización acompañante agrava la inflamación y la cicatrización (p. ej., en el tracoma).

Clasificación

Las clamidias se clasifican según su potencial patógeno, espectro de hospedadores, diferencias antigénicas y otros métodos. Se han clasificado tres especies que infectan a los seres humanos (cuadro 27-1).

A. *Chlamydia trachomatis*

Esta especie produce inclusiones intracitoplásmicas compactas que contienen glucógeno. Por lo general es inhibida por las sulfonamidas. Comprende a microorganismos que causan enfermedades en el ser humano como tracoma, conjuntivitis por inclusión, uretritis no gonocócica, salpingitis, neumonitis de lactantes y linfogranuloma venéreo. También existe una variedad de *C. trachomatis* que genera neumonitis en el ratón.

B. *Chlamydophila pneumoniae*

Esta especie produce inclusiones intracitoplásmicas que carecen de glucógeno. Por lo general es resistente a las sulfonamidas. Genera infecciones respiratorias en los seres humanos.

CUADRO 27-1 Características de las clamidias

	Chlamydia trachomatis	*Chlamydophila pneumoniae*	*Chlamydia psittaci*
Morfología de inclusión	Redonda, vacuolar	Redonda, densa	Grande, forma variable, densa
Inclusiones en glucógeno	Sí	No	No
Morfología de los cuerpos elementales	Redonda	Forma de pera, redonda	Redonda
Susceptibilidad a sulfonamidas	Sí	No	No
Plásmidos	Sí	No	Sí
Serotipos	15	1	≥4
Hospedador natural	Seres humanos	Seres humanos	Aves
Modo de transmisión	De persona a persona, madre a hijo	Aérea de persona a persona	Heces fecales de aves por vía aérea a seres humanos
Enfermedades principales	Tracoma, enfermedades de transmisión sexual, neumonía infantil, linfogranuloma venéreo	Neumonía, bronquitis, faringitis, sinusitis	Psitacosis, neumonía, fiebre de origen desconocido

C. *Chlamydia psittaci*

Esta especie produce inclusiones intracitoplásmicas difusas que carecen de glucógeno; por lo general es resistente a las sulfonamidas. Comprende a los microorganismos causales de psitacosis en el ser humano, ornitosis en las aves, meningoneumonitis, neumonitis felina y otras enfermedades de animales.

INFECCIONES OCULARES, GENITALES Y RESPIRATORIAS POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

El ser humano es el hospedador natural de *C. trachomatis*. Este microorganismo también produce infecciones oculares y genitales en los monos y chimpancés; también se replica en las células de cultivos hísticos. Los distintos serotipos de *C. trachomatis* se replican de manera distinta. Las cepas aisladas de tracoma no proliferan con la misma facilidad que las del linfogranuloma venéreo o infecciones genitales. La replicación intracitoplásmica tiene como resultado la formación de inclusiones compactas con una matriz de glucógeno en la que se incrustan cuerpos elementales. Los antisueros específicos para cada inmnunotipo permiten tipificar las cepas aisladas al ofrecer resultados análogos a los que se obtienen en la tipificación por medio de microinmunofluorescencia (MIF). Los serotipos relacionados de manera específica con el tracoma endémico son A, B, Ba y C; los que se relacionan con las enfermedades de transmisión sexual son D-K, y los que causan linfogranuloma venéreo son L1, L2 y L3.

TRACOMA

El tracoma es una enfermedad ocular antigua que se describe con detalle en el papiro de Ebers, escrito en Egipto hace 3 800 años. Es una queratoconjuntivitis crónica que empieza con cambios inflamatorios agudos en la conjuntiva y córnea y degenera en cicatrización y ceguera. El tracoma clínico es producido por los serotipos A, B, Ba y C de *C. trachomatis*.

Manifestaciones clínicas

En las infecciones experimentales de seres humanos, el periodo de incubación de la infección conjuntival por clamidia es de tres a 10 días. En las regiones endémicas, la infección inicial se produce durante la infancia y la aparición de la consecuencia a largo plazo, tracoma, es insidiosa. En las regiones endémicas por lo general la clamidosis se mezcla con conjuntivitis bacteriana y ambas producen las manifestaciones clínicas. Los primeros síntomas de tracoma son lagrimeo, secreción mucopurulenta, hiperemia conjuntival e hipertrofia folicular. El examen microscópico de la córnea revela queratitis epitelial, infiltrados subepiteliales y extensión de los vasos del limbo hasta la córnea (paño corneal). Conforme el paño se extiende en sentido inferior a través de la córnea, se produce cicatrización de la conjuntiva, deformidades de los párpados (entropión, triquiasis) y una mayor agresión causada por las pestañas al cepillar la córnea. Con la infección bacteriana secundaria, el sujeto pierde la vista en un periodo de varios años. Sin embargo, no existen signos o síntomas generalizados de esta infección.

Diagnóstico por laboratorio

El diagnóstico por laboratorio de las clamidosis se describe también en el capítulo 47.

A. Cultivo

Las inclusiones citoplásmicas típicas se observan en las células epiteliales de la muestra obtenida por raspado conjuntival teñida con anticuerpos fluorescentes o con el método de Giemsa. Éstos aparecen con mayor frecuencia durante la primera fase de la enfermedad y en la conjuntiva del tarso superior.

La inoculación de las muestras conjuntivales en cultivo de células de McCoy tratadas con cicloheximida permite la proliferación de *C. trachomatis* siempre y cuando el número de partículas infecciosas viables sea suficiente. La centrifugación del cultivo en células incrementa la sensibilidad del método. En ocasiones es posible establecer el diagnóstico durante la primera pasada después de dos o tres días de incubación buscando inclusiones por medio de inmunofluorescencia o tiñendo la muestra con yodo o colorante de Giemsa.

B. Serología

Los individuos infectados a menudo producen anticuerpos específicos tanto de grupo como de serotipo en el suero y las secreciones oculares. El método más sensible para detectarlos es la inmunofluorescencia. Ni los anticuerpos oculares ni los séricos confieren resistencia significativa contra la reinfección.

C. Métodos moleculares

En los países subdesarrollados, donde el tracoma es endémico, no suelen existir los recursos suficientes para aplicar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) ni otros métodos moleculares para el diagnóstico de la infección ocular por *C. trachomatis*. En los países desarrollados el tracoma es relativamente raro y la necesidad de contar con estas pruebas es mínima. Por lo tanto, los métodos moleculares que se han creado son para el diagnóstico de las infecciones genitales. Sólo en los proyectos de investigación se ha utilizado la PCR en estudios de tracoma.

Tratamiento

Los estudios clínicos realizados en pueblos con tracoma endémico utilizando el tratamiento en masa con azitromicina demuestran que tanto la infección como la enfermedad clínica disminuyen de manera considerable seis y 12 meses después del tratamiento. Esto es verdadero incluso con una sola dosis. Por lo tanto, la azitromicina ha sustituido a la eritromicina y doxiciclina en el tratamiento en masa del tracoma endémico. El tratamiento tópico tiene muy poca utilidad.

Epidemiología y control

Se cree que más de 400 millones de personas en el mundo padecen de tracoma y 20 millones son ciegos a causa de esta enfermedad, la cual es más frecuente en África, Asia y la cuenca del Mediterráneo, donde la higiene es deficiente y el agua escasa. En estas regiones hiperendémicas, la infección infantil es quizá universal y es frecuente la enfermedad grave que causa ceguera

(como resultado de la superinfección bacteriana). En Estados Unidos, el tracoma es esporádico en algunas regiones y existen algunos focos endémicos.

La Organización Mundial de la Salud ha iniciado el programa S-A-F-E para eliminar el tracoma que causa ceguera y reducir de manera considerable la enfermedad activa desde el punto de vista clínico. El programa S-A-F-E (por sus siglas en inglés) es como sigue: cirugía (*Surgery*) para los párpados deformados; tratamiento periódico con azitromicina; lavado e higiene de la cara (*Face*); y mejoramientos ambientales (*Environmental*), como construcción de letrinas y reducción del número de moscas que se alimentan de exudados conjuntivales. Es claro que al mejorar el contexto socioeconómico, el tracoma endémico irá desapareciendo.

INFECCIONES GENITALES POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* Y CONJUNTIVITIS DE INCLUSIÓN

Los serotipos D-K de *C. trachomatis* causan enfermedades de transmisión sexual, en especial en los países desarrollados, y en ocasiones también infecciones del ojo (conjuntivitis de inclusión). En los varones con vida sexual activa *C. trachomatis* causa **uretritis no gonocócica** y, en ocasiones, **epididimitis**. En la mujer, *C. trachomatis* causa **uretritis**, **cervicitis** y **enfermedad inflamatoria pélvica**, que provoca **esterilidad** y predispone al **embarazo ectópico**. Los varones y mujeres pueden presentar proctitis y proctocolitis, si bien esas infecciones son más frecuentes en varones que tienen relaciones sexuales con otros varones. La infección en cualquiera de estos sitios anatómicos origina signos y síntomas o puede ser asintomática pero contagiosa para las parejas sexuales. Hasta 50% de las uretritis no gonocócicas (varones) y de los síndromes uretrales (mujeres) se atribuye a clamidia y se acompaña de disuria, secreción no purulenta y frecuencia urinaria. En ocasiones las secreciones genitales de los adultos infectados son inoculadas por la misma persona en la conjuntiva, provocando conjuntivitis de inclusión, que es una infección ocular muy similar al tracoma agudo.

El recién nacido adquiere la infección al atravesar el canal del parto infectado. Quizá entre 20 y 60% de los hijos de mujeres infectadas adquieren la infección; entre 15 y 20% de los lactantes infectados manifiestan síntomas oculares y entre 10 y 40% manifiesta síntomas respiratorios. La **conjuntivitis de inclusión del recién nacido** empieza como conjuntivitis mucopurulenta siete a 12 días después del parto. Tiende a disminuir con eritromicina o tetraciclinas o bien de manera espontánea después de varias semanas o meses. En ocasiones persiste como clamidosis crónica con manifestaciones clínicas idénticas a las de un tracoma infantil subagudo o crónico en una región no endémica y sin conjuntivitis bacteriana.

Diagnóstico por laboratorio

A. Recolección de muestras

El factor más importante para establecer el diagnóstico de laboratorio de una clamidosis es la recolección adecuada de la muestra. Las clamidias son bacterias intracelulares estrictas, por lo que es importante que las muestras contengan células humanas infectadas y el material extracelular que también pudiera contener la bacteria. Se obtienen muestras endocervicales después de retirar la secreción del cuello del útero. Para raspar las células epiteliales a 1 o 2 cm de profundidad del endocérvix se utiliza un hisopo o un cepillo para citología. El hisopo debe ser de dacrón, algodón, rayón o alginato de calcio sobre un mango de plástico. Los demás materiales y los mangos de madera son tóxicos para las clamidias. El método para obtener muestras de la vagina, uretra o conjuntiva es similar. Las pruebas comerciales sin cultivo para diagnosticar clamidia no requieren de microorganismos viables. En general, estas pruebas patentadas comprenden los hisopos para recolectar las muestras y los tubos para transporte que son adecuados para cada prueba. Para el cultivo, las muestras se deben colocar en un medio de transporte para clamidia y mantenerse en refrigeración antes de llevarlas al laboratorio.

En la orina se puede buscar ácido nucleico de clamidia. Sólo se recolectan los primeros 20 ml de la micción puesto que un volumen mayor de orina diluye la orina inicial que atravesó la uretra, con lo que la prueba sería negativa a causa de la dilución.

B. Detección de ácido nucleico

La prueba de elección para diagnosticar las infecciones genitales por *C. trachomatis* es la amplificación de ácidos nucleicos (NAAT, *nucleic acid amplification tests*). Una de ellas se basa en la PCR y la otra en la amplificación del desplazamiento de las hebras. Estas pruebas ya se utilizan de manera extensa. Si bien son muy sensibles y específicas, no son perfectas. Los análisis nuevos para diagnosticar clamidosis se pueden comparar con los resultados combinados de ambas NAAT como referencia estándar.

En una prueba de hibridización de ácidos nucleicos, una sonda de DNA se hibridiza a una secuencia específica de rRNA 16S de clamidia; las clamidias poseen hasta 10^4 copias de rRNA 16S. Una vez que se forman los híbridos, se absorben en granos y la cantidad de híbrido se detecta por quimioluminescencia. En otro análisis de hibridización se utilizaron sondas de RNA para detectar secuencias de DNA de clamidia. La sensibilidad y especificidad global de estas pruebas son bastante buenas pero no tanto como las de NAAT. Sin embargo, los análisis de hibridización no requieren de los recursos tan costosos que necesitan las NAAT.

Algunas pruebas para detectar ácidos nucleicos han sido adaptadas para detectar al mismo tiempo *Neisseria gonorrhoeae*. No obstante, se debe tener cuidado al aplicar los resultados positivos de estas pruebas de detección de *N. gonorrhoeae*. Cuando la prueba para detectar *N. gonorrhoeae* tiene una sensibilidad y especificidad de 99% y la prevalencia de la infección es de 0.5 a 1%, el valor predictivo de una prueba positiva es menor de 50%. En este contexto, un resultado positivo de la NAAT para *N. gonorrhoeae* se debe confirmar por cultivo o con una segunda prueba de ácidos nucleicos (distinta).

C. Examen citológico directo (anticuerpos fluorescentes directos) e inmunoanálisis ligado a enzimas

Los equipos comerciales de anticuerpos fluorescentes directos (DFA, *direct fluorescent antibody*) e inmunoanálisis ligado a enzimas (EIA) para detectar *C. trachomatis* se pueden utilizar

en los laboratorios que carecen de la experiencia o las instalaciones necesarias para realizar pruebas para detectar ácidos nucleicos. En la DFA se utilizan anticuerpos monoclonales dirigidos contra un antígeno específico de especie en la MOMP de clamidia. En la EIA se detecta la presencia de antígenos específicos para el género extraídos de los cuerpos elementales de la muestra. La sensibilidad de estas pruebas es menor que la del cultivo y mucho menor que la de las pruebas de ácidos nucleicos.

D. Cultivo

Desde hace tiempo se utiliza el cultivo de *C. trachomatis* para diagnosticar clamidosis. Sin embargo, el cultivo es caro y complicado. Los resultados son demasiado tardados frente a los de la detección por medio de ácidos nucleicos y otras pruebas. Por lo general el cultivo es mucho menos sensible que la detección de ácidos nucleicos; el grado de sensibilidad depende en gran parte del método de cultivo utilizado. En la actualidad los cultivos se llevan a cabo en unos cuantos laboratorios de referencia. Las células de McCoy se cultivan en monocapas en cubreobjetos en viales de concha o copa. Algunos laboratorios utilizan charolas para microdilución de fondo plano, pero los cultivos por medio de este método no son tan sensibles como los del método con viales de concha. Las células de McCoy se tratan con cicloheximida para inhibir su metabolismo y aumentar la sensibilidad del aislamiento de clamidia. El inóculo de la muestra obtenida por medio de hisopos se centrifuga en una monocapa y se incuba a 35 a 37°C durante 48 a 72 h. Se puede inocular una segunda monocapa después de la incubación, que se somete a ultrasonido y se pasa a otra monocapa para aumentar la sensibilidad. Las monocapas se examinan por medio de inmunofluorescencia directa para observar las inclusiones citoplásmicas. Los cultivos de clamidia por medio de este método tienen una sensibilidad aproximada de 80% pero una especificidad de 100%.

E. Serología

En vista del volumen antigénico relativamente grande de clamidia en las infecciones genitales, los anticuerpos séricos son mucho más frecuentes que en el tracoma y su concentración es mayor. Durante la infección o después de ésta, la concentración de anticuerpos se eleva. A causa de la prevalencia tan elevada de infecciones genitales por clamidia en algunas sociedades, la población tiene un historial importante de anticuerpos anticlamidia; las pruebas serológicas para diagnosticar infecciones genitales por clamidia no suelen ser de utilidad.

En las secreciones genitales (p. ej., cervicales) se pueden detectar anticuerpos durante la infección activa y éstos se dirigen contra el inmunotipo causal (serotipo).

Tratamiento

Es muy importante tratar a la pareja sexual y los hijos de la paciente de manera simultánea para prevenir la reinfección. En la uretritis no gonocócica y en las mujeres no embarazadas por lo general se utilizan tetraciclinas (p. ej., doxiciclina). La azitromicina es eficaz y se puede administrar en mujeres embarazadas. En las infecciones neonatales por *N. gonorrhoeae* se utilizan tetraciclinas o eritromicina tópicas, pero éstas no previenen en forma efectiva las infecciones neonatales por *C. trachomatis*. El tratamiento sistémico también se debe utilizar en la conjuntivitis por inclusión puesto que el tratamiento tópico no siempre cura las infecciones oculares ni previene la infección respiratoria.

Epidemiología y control

La infección genital por clamidia y la conjuntivitis por inclusión constituyen enfermedades de transmisión sexual que se diseminan por el contacto con una pareja infectada. La conjuntivitis neonatal por inclusión se origina en el aparato genital infectado de la madre. Para prevenir los problemas oculares neonatales es necesario diagnosticar y tratar a la mujer embarazada y su pareja sexual. Al igual que en las demás enfermedades de transmisión sexual, se debe descartar la presencia de otras causas (gonococo, treponema, tricomonas, herpes, etc.). La administración de eritromicina o tetraciclina en los ojos del recién nacido no previene una conjuntivitis por clamidia. Para contener a esta enfermedad de transmisión sexual (y muchas otras) es importante practicar el sexo seguro y diagnosticar y tratar de manera oportuna a las personas infectadas.

CHLAMYDIA TRACHOMATIS Y NEUMONÍA NEONATAL

De los recién nacidos que son infectados por sus madres, entre 10 y 20% manifiesta problemas respiratorios dos a 12 semanas después del nacimiento, que culminan en neumonía. Quizá *C. trachomatis* es la causa más frecuente de neumonía neonatal. Se caracteriza por taquipnea intensa, tos paroxística y entrecortada característica, ausencia de fiebre y eosinofilia. En la radiografía se observa consolidación pulmonar e hiperinsuflación. El diagnóstico se sospecha en caso de neumonía en un recién nacido con conjuntivitis de inclusión y se estable aislando a *C. trachomatis* de las secreciones respiratorias. En caso de neumonía neonatal, la concentración de anticuerpos IgM contra *C. trachomatis* de 1:32 o más se considera diagnóstica. La eritromicina por vía general es el tratamiento más efectivo en los casos graves.

LINFOGRANULOMA VENÉREO

El linfogranuloma venéreo es una enfermedad de transmisión sexual causada por *C. trachomatis* que se caracteriza por adenitis inguinal supurativa; predomina en los climas tropicales.

Propiedades del microorganismo

Las partículas contienen antígenos termoestables del grupo clamidia compartidos por las demás clamidias. Además contienen uno de los tres antígenos de serotipo (L1-L3), que se definen por medio de inmunofluorescencia.

Manifestaciones clínicas

Varios días o semanas después del contacto, aparece una pequeña pápula o vesícula en cualquier parte de los genitales externos, ano, recto u otro sitio. Algunas veces la lesión se ulcera pero por lo general permanece inadvertida y cicatriza en unos cuantos días. Poco después los ganglios linfáticos regionales crecen y tienden a ser compactos y dolorosos. En los varones, los ganglios inguinales son los que suelen hipertrofiarse tanto arriba como debajo del ligamento de Poupart y la piel que los cubre adquiere color púrpura conforme los ganglios supuran y finalmente descargan pus a través de múltiples túneles fistulosos. En la mujer y los varones homosexuales por lo general se hipertrofian los ganglios perirrectales con proctitis y secreción mucopurulenta hemática por vía anal. La linfadenitis predomina en las cadenas cervicales.

La fase de linfadenitis activa suele acompañarse de síntomas generales como fiebre, cefalea, meningismo, conjuntivitis, eritemas cutáneos, náusea, vómito y artralgias. En raras ocasiones aparece meningitis, artritis y pericarditis. A menos que se instituya un tratamiento antimicrobiano eficaz durante esta fase, el proceso inflamatorio crónico degenera en fibrosis, obstrucción linfática y estenosis rectal. La obstrucción linfática provoca elefantiasis del pene, escroto o vulva. La proctitis crónica en mujeres o varones homosexuales causa estenosis rectales progresivas, obstrucción rectosigmoidea y formación de fístulas.

Diagnóstico por laboratorio

A. Frotis

Es posible teñir pus, bubones y material obtenido por biopsia, pero rara vez se identifican partículas.

B. Cultivo

El material sospechoso se inocula en cultivos de células de McCoy. Se agrega algún aminoglucósido (pero no penicilina) al inóculo para reducir la contaminación bacteriana. El microorganismo se identifica por medio de pruebas morfológicas y serológicas.

C. Serología

Por lo general se demuestra la presencia de anticuerpos por medio de fijación del complemento. Esta prueba se torna positiva entre dos y cuatro semanas después de iniciada la enfermedad, que es cuando casi siempre se puede demostrar hipersensibilidad cutánea. En un caso compatible desde el punto de vista clínico, la elevación progresiva de los anticuerpos o una sola concentración mayor de 1:64 constituye evidencia suficiente de infección activa. Cuando el tratamiento erradica el linfogranuloma venéreo, la concentración por fijación de complemento desciende. Para el diagnóstico serológico del linfogranuloma venéreo también se utiliza la inmunofluorescencia, pero el anticuerpo reacciona con numerosos antígenos de clamidia.

Inmunidad

Las infecciones sin tratamiento tienden a la cronicidad, con persistencia del microorganismo durante muchos años. Se sabe muy poco sobre la inmunidad activa. La coexistencia de infección latente, anticuerpos y reacciones celulares es típica de muchas clamidosis.

Tratamiento

Se han utilizado tanto sulfonamidas como tetraciclinas con buenos resultados, en especial durante las primeras fases. En algunas personas que han recibido medicamentos, los anticuerpos fijadores de complemento descienden, lo que indica que el microorganismo infeccioso ya se eliminó del cuerpo. Las fases más avanzadas necesitan cirugía.

Epidemiología y control

La mayor frecuencia de linfogranuloma venéreo se observa en las regiones subtropicales y tropicales, pero esta infección es mundial. Casi siempre se transmite por contacto sexual, pero no es exclusivo. En algunos casos la vía de entrada es el ojo (conjuntivitis con un síndrome oculoglandular). El aparato genital y el recto de las personas con una infección crónica (pero en ocasiones asintomática) sirven como reservorios de la infección. El personal de laboratorio que tiene contacto con aerosoles de *C. trachomatis* serotipos L1-L3, padece en ocasiones de una neumonitis por clamidia con adenopatía mediastinal e hiliar. Si se diagnostica la infección, el tratamiento con tetraciclina o eritromicina es eficaz.

Las medidas utilizadas para contener otras enfermedades de transmisión sexual también aplican en el caso del linfogranuloma venéreo. Es indispensable identificar los casos, administrar tratamiento oportuno y tener control sobre las personas infectadas.

CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE E INFECCIONES RESPIRATORIAS

La primera cepa de *C. pneumoniae* (TWAR) se obtuvo en el decenio de 1960 en cultivo de saco vitelino de embrión de pollo. Una vez que se crearon los métodos de cultivo celular, se creía que esta cepa inicial era miembro de la especie de *C. psittaci.* Más tarde, *C. pneumoniae* se ha establecido como una especie nueva que causa enfermedad del aparato respiratorio. El único hospedador conocido es el ser humano.

Propiedades del microorganismo

C. pneumoniae produce inclusiones redondas, densas y sin glucógeno que son resistentes a la sulfonamidas, muy similares a *C. psittaci* (cuadro 27-1). En ocasiones los cuerpos elementales adquieren forma de pera. La afinidad genética de las cepas aisladas de *C. pneumoniae* es mayor de 95%. Sólo se ha demostrado un serotipo.

Manifestaciones clínicas

La mayor parte de las infecciones por *C. pneumoniae* es asintomática o causa una enfermedad leve, pero también se han publicado algunos casos de enfermedades graves. No existen signos o síntomas que permitan distinguir de manera especí-

fica la infección por *C. pneumoniae* de la que causan muchos otros microorganismos. Se acompaña de problemas de las vías respiratorias tanto superiores como inferiores. Con frecuencia se trata de faringitis. Otras veces son sinusitis y otitis media acompañadas de problemas de las vías respiratorias inferiores. La enfermedad primaria que se diagnostica con mayor frecuencia es una neumonía atípica similar a la que causa *Mycoplasma pneumoniae*. Entre 5 y 20% de las neumonías extrahospitalarias en personas jóvenes se cree que son causadas por *C. pneumoniae*.

Diagnóstico por laboratorio

A. Frotis

La detección directa de cuerpos elementales en muestras clínicas utilizando técnicas de anticuerpos fluorescentes es insensible. Otros colorantes no permiten demostrar de manera eficaz el microorganismo.

B. Cultivo

Las muestras obtenidas de la faringe con hisopo se colocan en un medio para transportar clamidia a 4°C; *C. pneumoniae* se desactiva rápidamente a temperatura ambiente. Prolifera muy poco en cultivos celulares, formando inclusiones más pequeñas que la de otras clamidias. *C. pneumoniae* crece mejor en células HL y HEp-2 que en células HeLa 229 o células de McCoy; las células de McCoy se utilizan mucho para cultivar *C. trachomatis*. La sensibilidad del cultivo aumenta incorporando cicloheximida al medio de cultivo celular para inhibir el metabolismo de las células eucariotas y centrifugando el inóculo en la capa celular. El crecimiento es mejor a 35°C que a 37°C. Después de una incubación de tres días, las células se fijan y las inclusiones se detectan por medio de tinción de anticuerpos fluorescentes con anticuerpos específicos para el género o la especie o, de preferencia, con un anticuerpo monoclonal específico para *C. pneumoniae* conjugado con fluoresceína. La tinción de Giemsa es insensible y las inclusiones sin glucógeno no se tiñen con yodo. Es más o menos difícil cultivar a *C. pneumoniae,* lo que se demuestra por el número de cepas aisladas descritas frente a la frecuencia de la infección.

C. Serología

El método más sensible para diagnosticar infección por *C. pneumoniae* es la serología con pruebas de microinmunofluorescencia. Esta prueba es específica para cada especie y permite detectar anticuerpos IgG o IgM utilizando los reactivos correspondientes. La infección primaria provoca la formación de anticuerpos IgM después de tres semanas seguidas de anticuerpos IgG a las seis u ocho semanas. En la reinfección, la respuesta de IgM es ausente o mínima y la respuesta de IgG comienza una a dos semanas después. Se han sugerido los criterios siguientes para el diagnóstico serológico de infección por *C. pneumoniae:* una sola concentración de IgM ≥1:16; una sola concentración de IgG ≥1:512; y una elevación cuatro veces mayor en la concentración de IgM o IgG.

La fijación del complemento se puede utilizar, pero reacciona por grupo y no permite distinguir entre una infección por *C. pneumoniae* y una psitacosis o un linfogranuloma venéreo y es menos sensible que la microinmunofluorescencia.

Inmunidad

Se sabe muy poco sobre la inmunidad activa o la inmunidad potencialmente protectora. En ocasiones *C. pneumoniae* causa infecciones prolongadas y los portadores asintomáticos probablemente son bastante frecuentes.

Tratamiento

C. pneumoniae es sensible a los macrólidos y tetraciclinas, además de algunas fluoroquinolonas. Al parecer el tratamiento con doxiciclina, azitromicina o claritromicina es bastante efectivo en pacientes con infección por *C. pneumoniae,* pero la información sobre la eficacia de los antibióticos es muy limitada. Las publicaciones indican que los síntomas persisten o recurren después de un esquema tradicional de tratamiento con eritromicina, doxiciclina o tetraciclina y estos fármacos se deben administrar durante 10 a 14 días.

Epidemiología

La infección por *C. pneumoniae* es frecuente. En el mundo, entre 30 y 50% de las personas tiene anticuerpos contra *C. pneumoniae.* Muy pocos niños pequeños tienen anticuerpos, pero después de los seis a ocho años, la prevalencia de los anticuerpos aumenta hasta la madurez. La infección es tanto endémica como epidémica y se han atribuido varios brotes a *C. pneumoniae.* No se conoce un reservorio animal y se supone que se transmite de persona a persona, principalmente por vía aérea. Las líneas de evidencia que sugieren que *C. pneumoniae* está relacionada con la coronariopatía ateroesclerótica y la enfermedad vascular cerebral, consta de estudios seroepidemiológicos, detección de *C. pneumoniae* en tejido ateroesclerótico, estudios con cultivos celulares, modelos animales y estudios clínicos sobre prevención con antibióticos. Sin embargo, en otros estudios no se ha demostrado relación. La posible relación existente entre la infección por *C. pneumoniae* y la coronariopatía sigue siendo controversial.

CHLAMYDIA PSITTACI Y PSITACOSIS

El término "psitacosis" se aplica a la enfermedad por *C. psittaci* en seres humanos adquirida por el contacto con aves y además a la infección psitaciforme (pericos, periquitos, cacatúas, etc.). El término "ornitosis" se aplica a la infección por microorganismos similares en cualquier tipo de ave doméstica (palomas, pollos, patos, gansos, pavos, etc.) y aves silvestres (gaviotas, garzas, petreles, etc.). En los seres humanos, *C. psittaci* genera un espectro de manifestaciones clínicas que varían desde neumonía grave con septicemia y una mortalidad elevada hasta una infección leve y oculta.

Propiedades del microorganismo

C. psittaci se propaga en huevos con embrión, ratones y otros animales, así como en algunos cultivos celulares. El antígeno fijador de complemento con reacción a grupo y termoestable es resistente a las enzimas proteolíticas y al parecer es un lipopolisacárido. El tratamiento de la infección por *C. psittaci* con

desoxicolato y tripsina arroja extractos que contienen antígenos fijadores del complemento y reaccionan a grupo, mientras que las paredes celulares contienen el antígeno específico de especie. Los anticuerpos contra el antígeno específico de especie pueden neutralizar su toxicidad y potencial infeccioso. La tipificación por inmunofluorescencia permite demostrar algunos serotipos específicos característicos para ciertas especies de mamíferos y aves. Asimismo, se puede utilizar la neutralización del potencial infeccioso del microorganismo por medio de anticuerpos específicos o la protección cruzada de animales vacunados para la serotipificación y los resultados son similares a los de la tipificación por inmunofluorescencia.

Patogenia y patología

El microorganismo entra a través del aparato respiratorio, aparece en la sangre en las primeras dos semanas de la enfermedad y en el esputo una vez que penetra en los pulmones.

La psitacosis provoca inflamación con forma de placas de los pulmones donde se delimitan las áreas consolidadas. Los exudados son básicamente mononucleares. En los bronquíolos y bronquios los cambios son mínimos. Las lesiones son similares a las que se observan en la neumonitis causada por ciertos virus y micoplasmas. Con frecuencia el hígado, bazo, corazón y riñones se encuentran hipertróficos y congestionados.

Manifestaciones clínicas

La aparición repentina de una enfermedad similar a la influenza o a una neumonía bacteriana en una persona que tiene contacto con aves sugiere la posibilidad de psitacosis. El periodo de incubación es en promedio de 10 días. El inicio casi siempre es repentino con malestar general, fiebre, anorexia, disfagia, fotofobia y cefalea intensa. En algunos casos la enfermedad no evoluciona y el paciente mejora en unos cuantos días; en otros, aparecen signos y síntomas de neumonía bronquial al final de la primera semana. A menudo las manifestaciones clínicas son similares a la influenza, neumonía no bacteriana o fiebre tifoidea. La mortalidad es hasta de 20% en los casos que no reciben tratamiento, en especial en ancianos.

Diagnóstico por laboratorio

A. Cultivo

El de *C. psittaci* es peligroso y se prefiere detectar al microorganismo por medio de inmunoanálisis o PCR. En caso necesario, es posible cultivar a *C. psittaci* en la sangre, esputo o tejido pulmonar en células para cultivo hístico, embriones de huevo o ratones. El diagnóstico se confirma por medio de la transmisión seriada, su presencia microscópica y su identificación serológica.

B. Detección de *Chlamydia psittaci*

La detección de antígenos por medio de tinción directa con anticuerpos fluorescentes o por inmunoanálisis o diagnóstico molecular por PCR se lleva a cabo en laboratorios de referencia o investigación.

C. Serología

El diagnóstico de psitacosis suele confirmarse al demostrar la presencia de anticuerpos fijadores de complemento o microinmunofluorescentes en muestras de suero. Un caso confirmado es aquel con un cultivo positivo o con manifestaciones clínicas compatibles y aumento cuatro veces mayor en la concentración de anticuerpos de cuando menos 1:32 o una concentración de IgM por microinmunofluorescencia cuando menos de 1:16. Un caso probable es una enfermedad compatible vinculada desde el punto de vista epidemiológico con un caso confirmado o una concentración cuando menos de 1:32 en una sola muestra. La fijación del complemento tiene reacciones cruzadas con *C. trachomatis* y *C. pneumoniae.* La prueba de microinmunofluorescencia (MIF) es más sensible y específica que la fijación del complemento, pero algunas veces se producen reacciones cruzadas. La MIF permite detectar IgM e IgG. Si bien los anticuerpos suelen aparecer en los primeros 10 días, los antibióticos retrasan su aparición entre 20 y 40 días o incluso los suprimen por completo. En las aves vivas, la infección se sospecha por una fijación del complemento positiva y hepatomegalia o esplenomegalia. Se confirma demostrando la presencia de partículas en frotis o biopsias de órganos y al transmitir el microorganismo a ratones y huevos.

D. Métodos moleculares

Se han diseñado numerosos análisis con PCR para detectar *C. psittaci* en muestras de aparato respiratorio, tejido vascular, suero y células mononucleares de sangre periférica. Estas pruebas se llevan a cabo en laboratorios de referencia o investigación.

Inmunidad

La inmunidad en animales y seres humanos es incompleta. El estado de portador en el hombre persiste hasta 10 años después de la recuperación. Durante este periodo, el microorganismo se sigue excretando en el esputo.

Las vacunas con microorganismos vivos o inactivos inducen únicamente resistencia parcial en los animales. No se han utilizado en seres humanos.

Tratamiento

En vista de la dificultad para confirmar por medio de laboratorio la infección por *C. psittaci*, la mayor parte de las infecciones se trata sólo con base en el diagnóstico clínico. La información sobre la eficacia terapéutica proviene de varios estudios clínicos. La azitromicina, claritromicina y eritromicina (y doxiciclina en adultos) curan la mayor parte de las infecciones del aparato respiratorio por *C. psittaci*, pero no todas. Todos los pacientes mejoran desde el punto de vista clínico, incluso aquellos con infección persistente.

Epidemiología y control

Los brotes en seres humanos ocurren cuando existe contacto cercano y continuo entre personas y aves infectadas que excretan o desechan grandes cantidades de microorganismo infeccio-

so. Las aves a menudo adquieren la infección durante su etapa de polluelos en el nido, padecen diarrea o no y a menudo transportan el microorganismo durante toda su vida normal. Cuando se someten a algún estrés (p. ej., desnutrición, embarques), el ave enferma y muere. El microorganismo se encuentra en los tejidos (p. ej., bazo) y suele ser excretado en las heces fecales de las aves sanas. Uno de los métodos más frecuentes de contagio para el ser humano es la inhalación de las heces fecales secas de las aves. Otro método de infección es manejar tejidos infectados (p. ej., en plantas de producción de aves) y por la inhalación de un aerosol infectado.

Las aves que se tienen como mascotas también constituyen una fuente importante de infección para el ser humano. Las más importantes eran las aves psitácidas importadas. Las infecciones latentes se manifestaban en estas aves durante el transporte y el hacinamiento y las aves enfermas excretaban cantidades excesivas del microorganismo infeccioso. La regulación del embarque de aves, las cuarentenas y las pruebas de las aves importadas en busca de psitacosis, así como las tetraciclinas profilácticas en los alimentos para aves han ayudado a contener esta fuente. Las palomas que se crían para carreras como mascotas o por su carne, han sido fuente importante de infección. Las palomas que viven en los edificios y vías públicas de muchas ciudades, si están infectadas, desechan cantidades relativamente pequeñas del microorganismo.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿Cuál de las aseveraciones siguientes sobre los antígenos de clamidia es correcta?
   (A) Las clamidias comparten antígenos específicos de grupo o género
   (B) No existen reacciones cruzadas entre los antígenos de *Chlamydia trachomatis* y *Chlamydophila pneumoniae*
   (C) Los cinco serotipos de *Chlamydia pneumoniae* tienen reacciones cruzadas con *Chlamydia psittaci*
   (D) Un serotipo de *Chlamydia trachomatis* causa infecciones oculares y otro serotipo causa infecciones genitales
2. Las siguientes medidas forman parte de la contención de *Chlamydia psittaci* y la psitacosis en aves, *excepto*:
   (A) Cuarentena de las aves psitácidas importadas hacia Estados Unidos
   (B) Permitir la venta sólo de aves psitácidas incubadas en Estados Unidos
   (C) Realizar pruebas en las aves buscando infección por *Chlamydia psittaci*
   (D) Regular el embarque de aves psitácidas
   (E) Agregar tetraciclina a los alimentos de las aves psitácidas
3. Las aseveraciones siguientes sobre la transmisión perinatal de *Chlamydia trachomatis* son correctas, *excepto*:
   (A) Entre 15 y 40% de los hijos de mujeres infectadas padece conjuntivitis de inclusión
   (B) Entre 10 y 20% de los hijos de mujeres infectadas padece neumonía
   (C) El periodo de incubación de la conjuntivitis de inclusión por *Chlamydia trachomatis* es de uno a dos días
   (D) El periodo de incubación de la neumonía infantil suele ser de dos a 12 semanas
   (E) La profilaxis ocular con eritromicina o tetraciclina para la infección neonatal por *Neisseria gonorrhoeae* no suele ser eficaz contra la infección neonatal por *Chlamydia trachomatis*
   (F) La neumonía infantil por *Chlamydia trachomatis* suele acompañarse de tos entrecortada
4. Mujer adolescente que acudió a una clínica por la presencia de una secreción vaginal diferente. Recientemente había empezado a tener relaciones sexuales y dos parejas nuevas en el último mes. La exploración pélvica demostró secreción purulenta en el conducto endocervical. ¿Cuál de las aseveraciones siguientes sobre este caso es la más correcta?
   (A) No está indicado solicitar una prueba serológica de sífilis puesto que sus síntomas no corresponden a esta enfermedad
   (B) La tinción de Gram de la muestra endocervical demostraría la presencia de *Chlamydia trachomatis* dentro de células polimorfonucleares
   (C) El diagnóstico diferencial comprende infección por *Neisseria gonorrhoeae* o *Chlamydia trachomatis*
   (D) En la muestra endocervical se debe buscar herpes simple
   (E) El tratamiento inicial es con ampicilina
5. Las aseveraciones siguientes sobre el tracoma son correctas, *excepto*:
   (A) Aparece después de una infección ocular crónica o recurrente por *Chlamydia trachomatis*
   (B) Millones de personas en el mundo tienen tracoma
   (C) El tracoma se previene fácilmente por medio de una vacuna contra clamidia
   (D) Es posible reducir la velocidad con que avanza el tracoma por medio de un tratamiento intermitente con azitromicina
   (E) El tracoma causa cicatrización de la conjuntiva, deformidad de los párpados y lesión de la córnea por las pestañas
6. Para eliminar el tracoma que causa ceguera se necesita lo siguiente, *excepto:*
   (A) Administración periódica de azitromicina
   (B) Lavarse la cara e higiene general
   (C) Detección por medio de cultivos periódicos de muestras de conjuntiva en busca de *Chlamydia trachomatis*
   (D) Mejoramientos ambientales en los sistemas de drenaje para reducir el número de moscas
   (E) Cirugía de los párpados deformados
7. ¿Cuál de las aseveraciones siguientes sobre *Chlamydophila pneumoniae* es la más correcta?
   (A) Se transmite de persona a persona por vía aérea
   (B) Produce inclusiones con abundante glucógeno que se tiñen con yodo
   (C) Existen serotipos múltiples, incluidos tres que causan una enfermedad generalizada
   (D) Son resistentes a los macrólidos
   (E) Su reservorio es el gato casero
8. Por lo general los serotipos de *Chlamydia trachomatis* se pueden dividir en grupos según sus infecciones clínicas/sitio anatómico infectado. ¿Cuál de las aseveraciones siguientes sobre los serotipos de *Chlamydia trachomatis* es más correcta?
   (A) No existen reacciones cruzadas inmunológicas entre los serotipos de *Chlamydia trachomatis* A, B, Ba y D y el serotipo *Chlamydophila pneumoniae*
   (B) Los serotipos L1, L2 y L3 causan linfogranuloma venéreo
   (C) Los mismos serotipos de *Chlamydia trachomatis* causan tracoma que provoca ceguera e infecciones de transmisión sexual
   (D) La elevación en la concentración de anticuerpos empezando alrededor de seis a ocho años después de la infección suele ser causada por los serotipos D-K de *Chlamydia trachomatis*
9. En Estados Unidos, desde hace tiempo se sabe que la seroprevalencia positiva para infección por *Chlamydia trachomatis* aumenta de manera considerable durante los años escolares (seis a 10 años de edad). Una explicación probable es
   (A) Las infecciones frecuentes por adenovirus
   (B) La mayor frecuencia de infecciones por *Chlamydia trachomatis*

(C) Anticuerpos con reacciones cruzadas con la proteína M del estreptococo del grupo A (*Streptococcus pyogenes*)
(D) Los niños a menudo padecen psitacosis
(E) Infecciones frecuentes por *Chlamydophila pneumoniae*

10. Las aseveraciones siguientes sobre el linfogranuloma venéreo (LGV) son correctas, *excepto:*
(A) La proctitis crónica por LGV provoca la formación de estenosis y fisuras rectales
(B) La enfermedad es más frecuente en las latitudes del norte
(C) Algunas veces se acompaña de síntomas generalizados pronunciados como fiebre, náusea, vómito, cefalea y meningismo
(D) La inflamación crónica por LGV provoca obstrucción linfática
(E) Los ganglios linfáticos inguinales se hipertrofian y endurecen, drenando pus a través de la piel
(F) Unos cuantos días o semanas después del contacto la enfermedad se manifiesta en forma de una pápula o vesícula genital

Respuestas

1. A	4. C	7. A	10. B
2. B	5. C	8. B	
3. C	6. C	9. E	

BIBLIOGRAFÍA

Chlamydial diseases. Vol 2 Part III, Section C. In *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, et al (editors). Elsevier, 2010.

Essig A: *Chlamydia* and *Chlamydophila*. In *Manual of Clinical Microbiology,* 9th ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2007.



C A P Í T U L O

28

Quimioterapia antimicrobiana

Desde el siglo XVII se utilizan fármacos para el tratamiento de las infecciones (p. ej., quinina para el paludismo, emetina para la amebosis); sin embargo, la quimioterapia como ciencia empezó durante la primera década del siglo XX una vez que se conocieron los principios de la toxicidad selectiva, las relaciones químicas específicas entre los microorganismos patógenos y los fármacos, el surgimiento de resistencia farmacológica y la participación de la terapia combinada. Los experimentos culminaron en la creación de las arsfenaminas para la sífilis, que fue el primer régimen quimioterapéutico planeado.

La era actual de la quimioterapia antimicrobiana empezó en 1935 con el descubrimiento de las sulfonamidas. En 1940 se demostró que la penicilina, descubierta en 1929, es una sustancia terapéutica efectiva. Durante los siguientes 25 años, la investigación sobre las sustancias quimioterapéuticas se centró en gran parte en los elementos de origen microbiano llamados antibióticos. Después de aislar, concentrar, purificar y producir en masa la penicilina, se crearon la estreptomicina, las tetraciclinas, el cloranfenicol y muchos otros fármacos. Estas sustancias se aislaron originalmente a partir de medios filtrados en los que se habían cultivado los mohos respectivos. Una de las características más sobresalientes de los antimicrobianos modernos es la modificación sintética de los fármacos conocidos.

En este capítulo se describen los antimicrobianos más utilizados en el tratamiento de las infecciones bacterianas. La quimioterapia de los virus, hongos y parásitos se describe en los capítulos 30, 45 y 46, respectivamente. El capítulo 47 contiene más información sobre las pruebas de sensibilidad de las bacterias a los antimicrobianos.

MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS

Los antimicrobianos actúan de diversas formas: por toxicidad selectiva, inhibiendo la síntesis y función de la membrana celular, inhibiendo la síntesis de proteínas o inhibiendo la síntesis de ácidos nucleicos.

TOXICIDAD SELECTIVA

El antimicrobiano ideal exhibe toxicidad selectiva, lo que significa que el fármaco es nocivo para el microorganismo patógeno sin dañar al hospedador. La toxicidad selectiva a menudo es relativa y no absoluta. Esto implica que un fármaco a la concentración que tolera el hospedador es nocivo para el microorganismo infeccioso.

La toxicidad selectiva es una función de un receptor específico necesario para la fijación del fármaco o bien depende de la inhibición de algún acontecimiento bioquímico indispensable para el microorganismo patógeno pero no para el hospedador. Los mecanismos de acción de los antimicrobianos se pueden describir bajo cuatro encabezados:

1. Inhibición de la síntesis de la pared celular.
2. Inhibición de la función de la membrana celular.
3. Inhibición de la síntesis de proteínas (es decir, inhibición de la traducción y transcripción de material genético.
4. Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos.

INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE LA PARED CELULAR

Las bacterias poseen una capa externa rígida, llamada pared celular. La pared celular conserva la forma y el tamaño del microorganismo, cuya presión osmótica interna es elevada. Cuando la pared celular se lesiona (p. ej., por una lisozima) o su formación se inhibe, la célula se lisa. En un ambiente hipertónico (p. ej., sacarosa al 20%), la formación dañada de la pared celular provoca la formación de "protoplastos" bacterianos esféricos en los microorganismos grampositivos o "esferoplastos" en los microorganismos gramnegativos; estas variedades están limitadas por una membrana citoplasmática frágil. Si estos **protoplastos** o **esferoplastos** se colocan en un ambiente con tonicidad ordinaria, captan líquidos rápidamente, se edematizan y explotan. Las muestras obtenidas de pacientes que reciben tratamiento con antibióticos que actúan sobre la pared celular a menudo exhiben bacterias edematosas o con formas raras.

La pared celular contiene un polímero complejo y distinto desde el punto de vista químico, que es un "mucopéptido" ("peptidoglucano") que consta de polisacáridos y un polipéptido con numerosos enlaces cruzados. Los polisacáridos normalmente contienen a los aminoglúcidos *N*-acetilglucosamina y ácido acetilmurámico. Este último se encuentra exclusivamente en las bacterias. Los aminoácidos se unen a cadenas

peptídicas cortas. La rigidez final de la pared celular depende de los enlaces cruzados de las cadenas peptídicas (es decir, a través de puentes de pentaglicina) como resultado de las reacciones de transpeptidación que llevan a cabo diversas enzimas. La capa de peptidoglucano es mucho más gruesa en la pared celular de los microorganismos grampositivos que en la de los gramnegativos.

Los lactámicos β son inhibidores selectivos de la síntesis de la pared celular bacteriana y, por lo tanto, son activos contra las bacterias en proliferación. Esta inhibición es únicamente una de las diversas actividades de estos fármacos, pero es la que mejor se conoce. El paso inicial en la acción farmacológica consiste en enlazar al fármaco a los receptores celulares (**proteínas enlazadoras de penicilina; PBP,** *penicillin binding proteins*). Existen tres a seis PBP (PM 4 a 12 × 10^5), algunas de las cuales son enzimas de transpeptidación. Los diversos receptores tienen distintas afinidades por los fármacos y cada una intermedia un efecto distinto. Por ejemplo, el enlace de la penicilina a una PBP provoca principalmente un alargamiento anormal de la célula, mientras que el enlace a otra PBP provoca un defecto en la periferia de la pared celular que genera lisis celular. Las PBP se encuentran bajo regulación cromosómica y las mutaciones alteran su número o su afinidad por los lactámicos β.

Una vez que un lactámico β se ha adherido a uno o más receptores, se inhibe la reacción de transpeptidación y se bloquea la síntesis de peptidoglucano. El siguiente paso quizá comprende la eliminación o inactivación de un inhibidor de las enzimas autolíticas en la pared celular. De esta manera, se activa la enzima lítica, con lo que empieza la lisis siempre y cuando el ambiente sea isotónico. En un ambiente muy hipertónico, los microorganismos se transforman en protoplastos o esferoplastos, que se encuentran cubiertos únicamente por la membrana celular frágil. En estas células, la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos persiste durante cierto tiempo.

Las penicilinas y cefalosporinas inhiben a las enzimas de la transpeptidación quizá por su similitud estructural a la acil-D-alanil-D-alanina. La transpeptidación comprende la pérdida de una D-alanina del pentapéptido.

La extraordinaria falta de efectos adversos de los lactámicos β contra las células de mamíferos puede atribuirse a la ausencia, en las células animales, de una pared celular tipo bacteriana, con su peptidoglucano. La diferente sensibilidad de las bacterias grampositivas y gramnegativas a las diversas penicilinas o cefalosporinas quizá depende de una serie de diferencias estructurales en sus paredes celulares (p. ej., cantidad de peptidoglucano, presencia de receptores y lípidos, naturaleza de los enlaces cruzados, actividad de enzimas autolíticas) que establecen la penetración, el enlace y la actividad de los medicamentos.

La resistencia a las penicilinas depende de la producción de enzimas que destruyen a la penicilina (lactamasas β). Las **lactamasas** β abren el anillo lactámico β de las penicilinas y cefalosporinas anulando su actividad antimicrobiana. Se han descrito lactamasas β para numerosas especies de bacterias tanto grampositivas como gramnegativas. Algunas lactamasas β son gobernadas por plásmidos (p. ej., penicilinasa de *S. aureus*), mientras que otras son gobernadas por los cromosomas (p. ej., muchas especies de bacterias gramnegativas). Existen más de 30 lactamasas β gobernadas por plásmidos y todas ellas son producidas de manera constitutiva y tienen una gran tendencia a desplazarse de una especie de bacteria a otra (p. ej., *Neisseria gonorrhoeae, Haemophilus influenzae* y enterococos productores de lactamasa β). Las lactamasas β gobernadas por los cromosomas pueden ser producidas en forma constitutiva (p. ej., *Bacteroides, Acinetobacter*) o bien pueden ser inducidas (p. ej., *Enterobacter, Citrobacter, Pseudomonas*).

Existe un grupo de lactamasas β que se encuentra en ocasiones en ciertas especies de bacilos gramnegativos, por lo general *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. Estas enzimas se denominan **lactamasas β de amplio espectro (ESBL**, *extended-spectrum* β-lactamases) puesto que confieren a la bacteria el potencial adicional de hidrolizar los anillos lactámicos β de cefotaxima, ceftazidima o aztreonam.

La clasificación de las lactamasas β es compleja y se basa en su genética, propiedades bioquímicas y afinidad del sustrato por un inhibidor de la lactamasa β (ácido clavulánico). El ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam son inhibidores de la lactamasa β que tienen gran afinidad por algunas lactamasas β con las que se enlazan en forma irreversible (p. ej., penicilinasa de *S. aureus*) pero no son hidrolizados por la lactamasa β. Estos inhibidores protegen simultáneamente a las penicilinas hidrolizables (p. ej., ampicilina, amoxicilina y ticarcilina) de la destrucción. Ciertas penicilinas (p. ej., cloxacilina) también tienen gran afinidad por las lactamasas β.

Poco después de su primera descripción hace casi 30 años, las lactamasas β de amplio espectro más comunes eran del tipo gobernado por plásmidos clases A TEM y SHV (cuadro 28-1). En la actualidad son mucho más frecuentes en la mayor parte del mundo las enzimas CTX-M. Un aspecto de los más preocupantes es el surgimiento de carbapenemasas de *Klebsiella pneumoniae* (KPC, *Klebsiella pneumoniae carbapenemases*), que son enzimas tipo ESBL que confieren resistencia a las cefalosporinas de tercera y cuarta generaciones y a los carbapenémicos. Este mecanismo de resistencia es intermediado por plásmidos y se ha diseminado por muchos hospitales en Estados Unidos y otros países.

Existen otros dos tipos de mecanismos de resistencia. Uno es secundario a la ausencia de ciertos receptores de la penicilina (PBP) y ocurre como resultado de una mutación cromosómica; el otro es secundario al fracaso del lactámico β para activar a las enzimas autolíticas en la pared celular. Como resultado, el microorganismo es inhibido mas no aniquilado. Este tipo de **tolerancia** se ha observado especialmente con los estafilococos y ciertos estreptococos.

Algunos ejemplos de fármacos que actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular son las penicilinas, cefalosporinas, vancomicina y cicloserina. Muchos otros fármacos, como la bacitracina, teicoplanina, vancomicina, ristocetina y novobiocina inhiben los primeros pasos en la biosíntesis del peptidoglucano. Puesto que las primeras fases en la síntesis se llevan a cabo dentro de la membrana citoplasmática, estos fármacos deben cruzar la membrana para ser efectivos.

INHIBICIÓN DE LA FUNCIÓN DE LA MEMBRANA CELULAR

El citoplasma de las células vivas está limitado por la membrana citoplasmática, que sirve como barrera selectiva de permeabilidad, lleva a cabo funciones de transporte activo y, por lo tanto, regula la composición interna de la célula. Cuando se altera la integridad funcional de la membrana citoplasmática, las macromoléculas y iones salen de la célula y la célula se daña o muere.

CUADRO 28-1 Clasificación de las β-lactamasas

Sistema por grupos de Bush-Jacoby Medeiros	Tipo de enzima	Inhibición por medio de clavulanato	Sistema Ambler	Principales atributos
1	Cefalosporinasa	NO	C	Cromosómica; resistente a todos los lactámicos β excepto carbapenémicos
2a	Penicilinasa	SÍ	A (serina)	Penicilinasa estafilocócica
2b	Amplio espectro	SÍ	A	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	Espectro extendido	SÍ	A	TEM-3-160, SHV2-101
2br	Resistente al inhibidor	Reducida	A	TEM resistente al inhibidor
2c	Carbenicilinasa	SÍ	A	Hidroliza carbenicilina
2d	Cloxacilinasa	SÍ	D o A	Hidroliza cloxacilina (OXA)
2e	Cefalosporinasa	SÍ	A	Cefalosporinasas
2f	Carbapenemasa	SÍ	A	Carbapenemasas inhibidas por clavulanato (p. ej., IMP-1)
3a, 3b, 3c	Metaloenzimas	NO	B	Carbapenemasas dependientes del zinc
4	Penicilinasa	NO	A	Enzimas varias

Modificado con autorización de Perez F, Endimiani A, Hujer KM, Bonomo RA. Curr Opin Pharmacol 2007;7:459 y Opal SM y Pop-Vicas A. Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. En: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors) pp. 282-283, 2010.

La membrana citoplasmática de las bacterias y hongos tiene una estructura distinta a la de las células animales y es dañada con más facilidad por ciertos fármacos. Por lo tanto, es posible la quimioterapia selectiva.

Los detergentes, que contienen grupos lipófilos e hidrófilos, rompen las membranas citoplasmáticas y aniquilan a la célula (cap. 4). Una clase de antibióticos, las polimixinas, constan de péptidos cíclicos similares a detergentes que dañan de manera selectiva a las membranas que contienen fosfatidiletanolamina, uno de los componentes principales de las membranas bacterianas. Algunos antibióticos interfieren específicamente con la biosíntesis de las membranas citoplasmáticas: p. ej., el ácido nalidíxico y la novobiocina inhiben la síntesis de DNA y la novobiocina inhibe también la síntesis de ácido teicoico.

Una tercera clase de fármacos activos en la membrana son los ionóforos, compuestos que permiten la difusión rápida de cationes específicos a través de la membrana. Por ejemplo, la valinomicina intermedia de manera específica el paso de iones potasio. Ciertos ionóforos actúan formando poros hidrófilos en la membrana; otros actúan como transportadores de iones liposolubles que se comportan transportando de ida y vuelta dentro de la membrana. Los ionóforos aniquilan células al descargar el potencial de membrana, que es indispensable para la fosforilación oxidativa y para otros procesos intermediados por la membrana; no son selectivos para las bacterias pero actúan sobre las membranas de todas las células.

La daptomicina es un nuevo lipopéptido antimicrobiano que es rápidamente bactericida al unirse a la membrana celular de manera dependiente del calcio provocando la despolarización del potencial de la membrana bacteriana. El resultado es la liberación intracelular de potasio. En la actualidad este fármaco está aprobado para el tratamiento de las infecciones hematógenas por *Staphylococcus aureus* y para las infecciones de piel y tejidos blandos causadas por bacterias grampositivas, especialmente los microorganismos que son altamente resistentes a los lactámicos β y vancomicina.

Otros ejemplos de medicamentos que actúan inhibiendo la función de la membrana celular son la anfotericina B, la colistina y los imidazoles y triazoles.

INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS

Se sabe que las eritromicinas, lincomicinas, tetraciclinas, aminoglucósidos y cloranfenicol inhiben la síntesis de proteínas en las bacterias. Sin embargo, el mecanismo preciso de acción todavía se desconoce.

Las bacterias poseen ribosomas 70S, mientras que las células de mamíferos tienen ribosomas 80S. Las subunidades de cada tipo de ribosoma, su composición química y sus especificidades funcionales son lo suficientemente distintas como para explicar la razón por la que los antimicrobianos inhiben la síntesis de proteínas en los ribosomas bacterianos sin tener efectos importantes en los ribosomas de mamíferos.

En la síntesis normal de proteínas microbianas, el mensaje del mRNA se "lee" simultáneamente en diversos ribosomas que se encuentran dispersos en la tira de mRNA. Éstos se denominan **polisomas**.

Algunos ejemplos de fármacos que actúan inhibiendo la síntesis de proteínas son las eritromicinas, lincomicinas, tetraciclinas, glicilciclinas, aminuglucósidos y cloranfenicol.

Aminoglucósidos

El modo de acción de la estreptomicina se ha estudiado mucho más que el de otros aminoglucósidos, pero probablemente to-

dos actúan de manera similar. El primer paso es la unión del aminoglucósido a una proteína receptora específica (P 12 en el caso de la estreptomicina) en la subunidad 30S del ribosoma microbiano. En segundo lugar, el aminoglucósido bloquea la actividad normal del "complejo de iniciación" para la formación del péptido (mRNA + formilmetionina + tRNA). En tercer lugar, el mensaje del mRNA se lee mal en la "región de reconocimiento" del ribosoma. De esa manera, se inserta el aminoácido incorrecto en el péptido, provocando la formación de una proteína no funcional. En cuarto lugar, la unión del aminoglucósido provoca la desintegración de los polisomas y su separación formando **monosomas**, que no pueden llevar a cabo la síntesis de proteínas. Estas actividades son más o menos simultáneas y el efecto global suele ser un acontecimiento irreversible: la aniquilación de la bacteria.

La resistencia cromosómica de los microorganismos a los aminoglucósidos depende principalmente de la ausencia de una proteína receptora específica en la subunidad 30S del ribosoma. La resistencia a los aminoglucósidos que depende de los plásmidos está sujeta a la producción en el microorganismo de enzimas adenililadoras, fosforiladoras o acetiladoras que destruyen a los fármacos. Un tercer tipo de resistencia es la que consta de un "defecto de la permeabilidad", un cambio en la membrana externa que reduce el transporte activo del aminoglucósido hacia el interior de la célula de manera que el fármaco no puede alcanzar el ribosoma. Con frecuencia este proceso es intermediado por plásmidos.

Macrólidos, azálidos y cetólidos

Estos fármacos (eritromicinas, azitromicina, claritromicina y roxitromicina además del cetólido telitromicina) se unen a la subunidad 50S del ribosoma y el sitio de enlace es un rRNA 23S. Interfieren con la formación de complejos de iniciación para la síntesis de las cadenas peptídicas o bien interfieren con las reacciones de translocación del aminoacilo. Algunas bacterias que son resistentes a los macrólidos carecen del receptor correspondiente en el ribosoma (a través de la metilación del rRNA). Este fenómeno es regulado por plásmidos o cromosomas.

Lincomicinas

La clindamicina se une a la subunidad 50S del ribosoma microbiano y es similar a los macrólidos en cuanto al sitio de enlace, su actividad antibacteriana y el modo de acción. Los mutantes cromosómicos son resistentes puesto que carecen del sitio correspondiente de enlace en la subunidad 50S.

Tetraciclinas

Las tetraciclinas se unen a la subunidad 30S de los ribosomas microbianos. Inhiben la síntesis de proteínas al bloquear la unión del aminoacil-tRNA cargado. De esta manera, impiden la introducción de nuevos aminoácidos en la cadena nueva de péptidos. Esta acción suele ser inhibidora y reversible al retirar el fármaco. La resistencia a las tetraciclinas ocurre por tres mecanismos: salida, protección ribosómica y modificación química. Los más importantes son los primeros dos y su mecanismo es el siguiente: la membrana citoplasmática de la célula bacteriana contiene bombas de salida que expulsan al fármaco de la célula. Los productos del gen *tet* son los encargados de proteger al ribosoma, probablemente a través de mecanismos que inducen cambios en la conformación. Estos cambios impiden el enlace de las tetraciclinas o bien provocan su separación del ribosoma. Con frecuencia este mecanismo es regulado por plásmidos. Las células de mamíferos no concentran de manera activa las tetraciclinas.

Glicilciclinas

Las glicilciclinas son análogos sintéticos de las tetraciclinas. El medicamento disponible en Estados Unidos y Europa es la tigeciclina, derivado de la minociclina. Las glicilciclinas inhiben la síntesis de proteínas de manera similar a las tetraciclinas; sin embargo, son bactericidas probablemente por su unión más ávida con el ribosoma. La tigeciclina es activa contra una gran variedad de bacterias tanto grampositivas como gramnegativas, incluidas algunas cepas que son resistentes a las tetraciclinas típicas. La actividad clínica de este medicamento aún se está investigando, pero en la actualidad su principal aplicación es al parecer el tratamiento de las infecciones de la piel y la estructura cutánea y las infecciones intraabdominales, especialmente las que son causadas por bacterias patógenas resistentes a otros antimicrobianos.

Cloranfenicol

El cloranfenicol se une a la subunidad 50S del ribosoma. Interfiere con el enlace de nuevos aminoácidos en la cadena peptídica naciente, en gran parte puesto que el cloranfenicol inhibe a la peptidiltransferasa. El cloranfenicol es básicamente bacteriostático y la proliferación de los microorganismos se restablece cuando el fármaco se suspende. Los microorganismos que son resistentes al cloranfenicol producen la enzima acetiltransferasa de cloranfenicol, que destruye la actividad del fármaco. Por lo general la producción de esta enzima es regulada por un plásmido.

Estreptograminas

La quinupristina/dalfopristina es una combinación de dos derivados de la pristinamicina. Estos dos fármacos actúan de manera sinérgica para lograr su actividad bactericida contra bacterias grampositivas que no se observa cuando se utilizan en forma aislada. Al parecer su mecanismo de acción es la unión irreversible a diversos sitios en el ribosoma 50S.

Oxazolidinonas

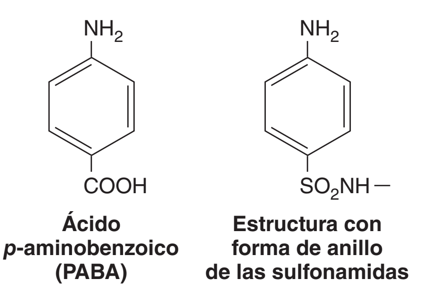
Las oxazolidinonas son una clase relativamente nueva de antimicrobianos que poseen un mecanismo singular para inhibir la síntesis de proteínas principalmente en las bacterias grampositivas. Estos compuestos interfieren con la traducción al inhibir la formación de *N*-formilmetionil-tRNA, que es el complejo de iniciación en el ribosoma 30S. En la actualidad el fármaco disponible en el comercio es el linezolida.

INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE ÁCIDOS NUCLEICOS

Algunos ejemplos de fármacos que actúan inhibiendo la síntesis de ácidos nucleicos son las quinolonas, pirimetamina, rifampicina, sulfonamidas, trimetoprim y trimetrexato. La rifampicina inhibe la proliferación bacteriana al unirse fuertemente con la polimerasa de RNA dependiente del DNA de las bacterias. De esta manera, inhibe la síntesis bacteriana de RNA. La resistencia a la rifampicina es resultado de un cambio en la polimerasa de RNA a causa de una mutación cromosómica que ocurre con una frecuencia elevada. El mecanismo de acción de la rifampicina sobre los virus es distinto. Bloquea una fase tardía en el ensamble de los poxvirus.

Todas las quinolonas y fluoroquinolonas inhiben la síntesis microbiana de DNA bloqueando a la DNA girasa.

Para muchos microorganismos, el ácido *p*-aminobenzoico (PABA) es un metabolito indispensable. El modo específico de acción del PABA comprende una condensación sujeta al trifosfato de adenosina (ATP) de una pteridina con un PABA para obtener ácido dihidropteroico, que posteriormente es convertido en ácido fólico. El PABA participa en la síntesis de ácido fólico, precursor importante para la síntesis de ácidos nucleicos. Las sulfonamidas con análogos estructurales de PABA e inhiben a la dihidropteroato sintetasa.



Las sulfonamidas pueden entrar en la reacción en lugar del PABA y competir por el centro activo de la enzima. Como resultado se forman análogos no funcionales de ácido fólico, lo que impide aún más la proliferación de la célula bacteriana. La acción inhibidora de las sulfonamidas sobre la proliferación bacteriana es contrarrestada por un exceso de PABA en el ambiente (inhibición competitiva). Las células animales no pueden sintetizar ácido fólico y dependen de las fuentes exógenas. Algunas bacterias, al igual que las células animales, no son inhibidas por las sulfonamidas. Sin embargo, muchas otras bacterias sintetizan ácido fólico como ya se mencionó y por lo tanto son sensibles a la acción de las sulfonamidas.

El trimetoprim (3,4,5-trimetoxibencilpirimidina) inhibe a la ácido dihidrofólico reductasa con una eficacia 50 000 veces mayor en las bacterias que en las células de mamífero. Esta enzima reduce al ácido dihidrofólico para formar ácido tetrahidrofólico, una fase en la secuencia que provoca la síntesis de purinas y finalmente de DNA. Tanto las sulfonamidas como el trimetoprim se pueden utilizar en forma aislada para inhibir la proliferación bacteriana. Si se usan juntas, producen un bloqueo secuencial, con lo que su acción se acentúa (sinergia). Las mezclas de sulfonamidas (cinco partes) con trimetoprim (una parte) se han utilizado en el tratamiento de la neumonía por *Pneumocystis,* paludismo, enteritis por shigela, salmonelosis generalizada, infecciones urinarias y muchas otras.

La pirimetamina también inhibe a la dihidrofolato reductasa, pero es más activa contra la enzima en las células de mamífero y por lo tanto es más tóxica que el trimetoprim. Actualmente el tratamiento de elección de la toxoplasmosis y otras infecciones por protozoarios es la combinación de pirimetamina con sulfonamida o clindamicina.

RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS

Existen numerosos mecanismos a través de los cuales los microorganismos adquieren resistencia contra los fármacos.

1) Los microorganismos producen enzimas que destruyen al fármaco activo. ***Ejemplos:*** el estafilococo resistente a la penicilina G produce lactamasa β que destruye al fármaco. Los bacilos gramnegativos producen otras lactamasas β. Las bacterias gramnegativas que son resistentes a los aminoglucósidos (gracias a un plásmido) producen enzimas adeniladoras, fosforiladoras o acetiladoras que destruyen al fármaco.

2) Los microorganismos cambian su permeabilidad al fármaco. ***Ejemplos:*** las tetraciclinas se acumulan en las bacterias sensibles pero no en las resistentes. Asimismo, la resistencia a las polimixinas está vinculada con un cambio en la permeabilidad a los fármacos. Los estreptococos poseen una barrera natural de permeabilidad contra los aminoglucósidos. Esta característica se puede vencer parcialmente por medio de la presencia simultánea de un fármaco activo en la pared celular, por ejemplo, una penicilina. La resistencia a la amikacina y otros aminoglucósidos depende en ocasiones de la falta de permeabilidad a los medicamentos, aparentemente por un cambio de la membrana externa que daña el transporte activo hacia el interior de la célula.

3) Los microorganismos forman un sitio de acción estructural modificado para el fármaco (véase también [5], más adelante). ***Ejemplos:*** los microorganismos resistentes a la eritromicina tienen un receptor modificado en la subunidad 50S del ribosoma, que es resultado de la metilación de un RNA ribosómico 23S. La resistencia a ciertas penicilinas y cefalosporinas puede ser función de la pérdida o alteración de las PBP. La resistencia a la penicilina en los *Streptococcus penumoniae* y enterococos es secundaria a PBP alterados.

4) Los microorganismos forman una vía metabólica modificada que desvía la reacción que es inhibida por el fármaco. ***Ejemplo:*** algunas bacterias resistentes a las sulfonamidas no necesitan PABA extracelular pero, al igual que los mamíferos, pueden utilizar ácido fólico preformado.

5) Los microorganismos producen una enzima modificada que aún puede llevar a cabo su función metabólica pero resulta mucho menos alterada por el fármaco. ***Ejemplo:*** en las bacterias resistentes al trimetoprim, la reductasa de ácido dihidrofólico se inhibe con mucha menos eficacia que en las bacterias sensibles al trimetoprim.

ORIGEN DE LA FARMACORRESISTENCIA

Origen no genético de la farmacorresistencia

Para la mayor parte de las acciones antibacterianas es necesaria la replicación de las bacterias. Por lo tanto, los microorganismos

que carecen de actividad metabólica (no se multiplican) son fenotípicamente resistentes a los fármacos. Sin embargo, su progenie es sensible. ***Ejemplo:*** las micobacterias a menudo sobreviven en los tejidos durante varios años después de la infección pero están reprimidas por las defensas del hospedador y no se multiplican. Estos microorganismos "persistentes" son resistentes al tratamiento y no se pueden erradicar con medicamentos. Sin embargo, cuando empiezan a multiplicarse (p. ej., después de suprimir la inmunidad celular en un paciente), se reanuda su sensibilidad a los mismos fármacos.

Algunos microorganismos pierden su sitio de acción específico para un fármaco durante varias generaciones y por lo tanto son resistentes. ***Ejemplo:*** algunas veces los microorganismos sensibles a la penicilina cambian a formas L con deficiencia de la pared celular durante la administración de penicilina. Al carecer de paredes celulares, son resistentes a los fármacos que inhiben la pared celular (penicilinas, cefalosporinas) y así permanecen durante varias generaciones. Cuando estos microorganismos restablecen sus formas originales al reanudar la producción de una pared celular, de nuevo son sensibles a la penicilina.

Otros microorganismos infectan al hospedador en los sitios donde los antimicrobianos no penetran o no son activos. ***Ejemplos:*** los aminoglucósidos como la gentamicina no son efectivos en el tratamiento de la salmonelosis intestinal puesto que la salmonela es intracelular y los aminoglucósidos no penetran en las células. Asimismo, únicamente los fármacos que penetran en la células son efectivos en el tratamiento de la legionelosis por la ubicación intracelular de *Legionella pneumophila*.

Origen genético de la farmacorresistencia

La mayor parte de los microorganismos resistentes a fármacos emerge como resultado de algún cambio genético y una serie de procesos de selección ulteriores por los antimicrobianos.

Resistencia cromosómica

Surge como resultado de una mutación espontánea en un locus que regula la sensibilidad a determinado antimicrobiano. La presencia del antimicrobiano sirve como mecanismo de selección para suprimir a los microorganismos sensibles y fomentar la proliferación de los mutantes resistentes. Las mutaciones espontáneas ocurren con una frecuencia de 10^{-12} a 10^{-7} y por tanto constituyen una causa rara de resistencia clínica a los fármacos. Sin embargo, los mutantes cromosómicos resistentes a la rifampicina son mucho más frecuentes (aproximadamente 10^{-7} a 10^{5}). Por lo tanto, el tratamiento de las infecciones bacterianas exclusivamente con rifampicina a menudo fracasa. Los mutantes cromosómicos por lo general son resistentes gracias a un cambio en un receptor estructural para un fármaco. Por lo tanto, la proteína P 12 en la subunidad 30S del ribosoma bacteriano sirve como receptor para el enlace de la estreptomicina. La mutación en el gen que regula a esa proteína estructural provoca resistencia a la estreptomicina. La mutación también puede provocar la pérdida de PBP, lo que hace que estos mutantes sean resistentes a los lactámicos β.

Resistencia extracromosómica

Con frecuencia las bacterias contienen elementos genéticos extracromosómicos llamados plásmidos. Sus características se describen en el capítulo 7.

Algunos plásmidos transportan genes de resistencia a uno, y con frecuencia a varios, antimicrobianos. Los genes de los plásmidos para resistencia antimicrobiana suelen regular la formación de enzimas que pueden destruir a los antimicrobianos. Así, los plásmidos establecen la resistencia a las penicilinas y cefalosporinas al transportar genes para la formación de lactamasas β. Los plásmidos codifican las enzimas que acetilan, adenilan o fosforilan diversos aminoglucósidos, para enzimas que determinan el transporte activo de las tetraciclinas a través de la membrana celular, y para otras.

El material genético y los plásmidos se pueden transferir a través de transducción, transformación y conjugación. Estos procesos se describen en el capítulo 7.

RESISTENCIA CRUZADA

Algunos microorganismos que son resistentes a cierto fármaco también son resistentes a otros fármacos que comparten un mecanismo de acción. Este tipo de relación existe principalmente entre fármacos con similitud química (p. ej., diferentes aminoglucósidos) o que tienen un modo similar de enlace o acción (p. ej., macrólidos-lincomicina). En determinadas clases de fármacos, el núcleo activo de la sustancia química es tan similar entre distintos congéneres (p. ej., tetraciclinas), que la resistencia cruzada es extensa.

LIMITACIÓN DE LA FARMACORRESISTENCIA

Es posible reducir al mínimo el surgimiento de farmacorresistencia en las infecciones de las maneras siguientes: 1) manteniendo una concentración suficientemente elevada del fármaco en los tejidos para inhibir tanto la población original como los mutantes de primer paso; 2) administrando al mismo tiempo dos fármacos que carezcan de resistencia cruzada, cada uno de los cuales retrasa el surgimiento de mutantes resistentes a otros fármacos (p. ej., rifampicina e isoniazida en el tratamiento de la tuberculosis), y 3) evitando el contacto del microorganismo con un fármaco especialmente valioso al limitar su empleo, sobre todo en hospitales.

CONSECUENCIAS CLÍNICAS DE LA FARMACORRESISTENCIA

Con unos cuantos ejemplos se ilustrarán las consecuencias del surgimiento de microorganismos resistentes a los fármacos y su selección por el uso tan extendido de antimicrobianos.

Gonococo

Cuando se utilizaron por primera vez las sulfonamidas a finales de la década de 1930 para el tratamiento de la gonorrea, casi todas las cepas aisladas de gonococo eran sensibles y se curaban la mayor parte de las infecciones. Unos cuantos años después, la mayor parte de las cepas se había tornado resistente a las sulfonamidas y la gonorrea rara vez se curaba con estos fármacos. La mayor parte de los gonococos era aún sensible a la penicilina. En las siguientes décadas, aumentó de manera gradual la resistencia

a la penicilina, pero una dosis elevada aún era curativa. En la década de 1970, aparecieron gonococos productores de lactamasa β, primero en las Filipinas y luego en África occidental y se diseminaron hasta formar focos endémicos en todo el mundo. Estas infecciones no se podían tratar de manera eficaz con penicilina y se utilizó espectinomicina. Ya apareció resistencia a la espectinomicina. Ahora se recomienda administrar cefalosporinas de tercera generación o quinolonas para el tratamiento de la gonorrea. Sin embargo, la aparición de resistencia a la quinolona en algunas regiones geográficas ha limitado su empleo.

Meningococo

Hasta el año de 1962, el meningococo era sensible a las sulfonamidas y estos fármacos eran efectivos para la profilaxis y el tratamiento. Posteriormente surgieron meningococos resistentes a las sulfonamidas y ahora estos medicamentos han perdido su utilidad contra las infecciones meningocócicas. Las penicilinas siguen siendo efectivas para el tratamiento y para la profilaxis se utiliza rifampicina. No obstante, han surgido cepas de meningococo resistentes a la rifampicina (hasta 27% de las cepas aisladas) con el potencial de generar infecciones invasoras.

Estafilococo

En 1944, la mayor parte de los estafilococos era sensible a la penicilina G, si bien se habían observado unas cuantas cepas resistentes. Después del empleo masivo de penicilina, entre 65 y 85% de los estafilococos aislados en hospitales en 1948 eran productores de lactamasa β y por lo tanto resistentes a la penicilina G. El advenimiento de las penicilinas resistentes a la lactamasa β (p. ej., nafcilina) ofreció una tregua temporal, pero ahora son frecuentes las infecciones por estafilococos resistentes a la nafcilina. En la actualidad, los estafilococos resistentes a la penicilina comprenden no sólo a los que se adquieren en los hospitales, sino también a 80 a 90% de los que se obtienen en la población. Estos microorganismos también tienden a ser resistentes a otros fármacos como las tetraciclinas. Los estafilococos resistentes a la nafcilina son frecuentes en los hospitales de atención terciaria. El principal antibiótico utilizado para el tratamiento de las infecciones por *S. aureus* resistente a la nafcilina es la vancomicina, pero la obtención de cepas con resistencia intermedia y las publicaciones sobre varios casos de gran resistencia a la vancomicina han incitado la búsqueda de otros fármacos nuevos.

Neumococo

S. pneumoniae era sensible a la penicilina G hasta 1963, cuando se encontraron cepas relativamente resistentes a la penicilina en Nueva Guinea. Posteriormente se encontraron neumococos resistentes a la penicilina en Sudáfrica, Japón, España y más tarde en todo el mundo. En Estados Unidos, cerca de 15% de los neumococos es resistente a la penicilina G (concentración mínima inhibidora [MIC] >2 μg/ml) y aproximadamente 18% tiene una resistencia intermedia (MIC de 0.1 a 1 μg/ml). La resistencia a la penicilina es secundaria a proteínas enlazadoras de penicilina modificadas. La resistencia a la penicilina en el neumococo tiende a ser clonal. El neumococo con frecuencia también es resistente al trimetoprim-sulfametoxazol, eritromicina y tetraciclinas. También está empezando a surgir resistencia a la quinolona.

Enterococo

El enterococo tiene resistencia intrínseca a múltiples antimicrobianos: penicilina G y ampicilina con MIC elevadas; cefalosporinas con MIC muy elevadas; resistencia leve a los aminoglucósidos y resistencia al trimetoprim-sulfametoxazol *in vivo*. Asimismo, se ha demostrado que el enterococo posee resistencia adquirida a casi todos los antimicrobianos por los mecanismos siguientes: PBP modificadas y resistencia a los lactámicos β; gran resistencia a los aminoglucósidos; y resistencia a las fluoroquinolonas, macrólidos, azálidos y tetraciclinas. Algunos enterococos han adquirido un plásmido que codifica la lactamasa β y son muy resistentes a la penicilina y a la ampicilina. La más importante es la resistencia a la vancomicina, que ya es frecuente en Europa y Norteamérica aunque existen variaciones geográficas en cuanto al porcentaje de enterococos resistentes a la vancomicina. La especie que es resistente a la vancomicina con más frecuencia es *Enterococcus faecium*. En los brotes de infecciones por enterococos resistentes a la vancomicina, las cepas aisladas difieren desde el punto de vista clonal o genético. También existe resistencia de los enterococos a las estreptograminas (quinupristina/dalfopristina).

Bacterias intestinales gramnegativas

La mayor parte de la farmacorresistencia en las bacterias intestinales se atribuye a la transmisión extensa de plásmidos de resistencia entre distintos géneros. Cerca de 50% de las cepas de la especie *Shigella* en muchas partes del mundo ahora es resistente a múltiples fármacos.

Las salmonelas transportadas por animales han desarrollado también resistencia, en especial a fármacos (sobre todo a las tetraciclinas) incorporados en los alimentos de los animales. La costumbre de incorporar fármacos en los alimentos de los animales provoca que los animales de granja crezcan con mayor rapidez, pero también aumenta la cantidad de microorganismos intestinales resistentes a fármacos en la flora fecal de los granjeros. El incremento concomitante de infecciones por salmonela resistente a fármacos en Gran Bretaña, provocó que se limitaran los antibióticos en los alimentos de los animales. En Estados Unidos, la adición continua de tetraciclinas a los alimentos de los animales quizá contribuye a la propagación de plásmidos de resistencia y de salmonela resistente a fármacos.

Los plásmidos que transportan genes de farmacorresistencia, existen en muchas bacterias gramnegativas de la flora intestinal normal. El uso excesivo de antimicrobianos (en especial en los pacientes hospitalizados) provoca la supresión de los microorganismos sensibles al fármaco en la flora intestinal y favorece la persistencia y proliferación de bacterias resistentes a fármacos, incluidos *Enterobacter, Klebsiella, Proteus, Pseudomonas* y *Serratia*, y hongos. Estos microorganismos generan problemas especialmente difíciles en los pacientes granulocitopénicos e inmunodeprimidos. El ambiente cerrado de los hospitales facilita la transmisión de estos microorganismos resistentes a través del personal y los fómites, así como por contacto directo.

Mycobacterium tuberculosis

Aproximadamente 10% de las cepas aisladas de *M. tuberculosis* exhibe resistencia primaria a fármacos, principalmente a la isoniazida y estreptomicina. La resistencia a la rifampicina o etambutol es menos frecuente. La isoniazida y la rifampicina constituyen

los fármacos principales utilizados en los regímenes terapéuticos tradicionales; otros fármacos de primera línea son la pirazinamida, etambutol o estreptomicina. La resistencia a la isoniazida y rifampicina se considera farmacorresistencia múltiple. En Estados Unidos, la farmacorresistencia múltiple de *M. tuberculosis* ha disminuido considerablemente. En el mundo, el mayor índice de tuberculosis resistente a múltiples fármacos proviene de los países de Europa oriental, especialmente entre los países de la antigua Unión Soviética. Uno de los factores principales para la farmacoresistencia durante el tratamiento es el incumplimiento terapéutico. La contención de la tuberculosis resistente a múltiples fármacos constituye un problema importante en todo el mundo.

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA *IN VITRO*

La actividad antimicrobiana se mide *in vitro* para establecer: 1) la potencia de un antimicrobiano en solución; 2) su concentración en los líquidos corporales y tejidos, y 3) la sensibilidad de determinado microorganismo a una concentración conocida del fármaco.

FACTORES QUE MODIFICAN LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

De los numerosos factores que modifican la actividad antimicrobiana *in vitro*, es importante tomar en consideración los siguientes, puesto que repercuten enormemente en los resultados de las pruebas.

pH ambiental

Algunos fármacos son más activos a un pH ácido (p. ej., nitrofurantoína); otros, a un pH alcalino (p. ej., aminoglucósidos, sulfonamidas).

Componentes del medio

El polianetolsulfonato de sodio (en medio para hemocultivo) y otros detergentes aniónicos inhiben a los aminoglucósidos. El PABA en los extractos de tejido antagoniza a las sulfonamidas. Las proteínas séricas se fijan a las penicilinas en diversos grados, que varían de 40% para la meticilina a 98% para la dicloxacilina. La adición de NaCl al medio de cultivo facilita la detección de resistencia de *S. aureus* a la meticilina.

Estabilidad del fármaco

A temperatura de incubadora, varios antimicrobianos pierden su actividad. Las penicilinas se inactivan lentamente, mientras que los aminoglucósidos y la ciprofloxacina son muy estables durante un periodo prolongado.

Tamaño de la siembra

En general, entre mayor sea la siembra bacteriana, menor es la "sensibilidad" aparente del microorganismo. Una población grande de bacterias se inhibe con menos rapidez e integridad que una pequeña. Además, la probabilidad de que surja una mutante resistente es mucho mayor en una población grande.

Intervalo de incubación

En muchos casos, los microorganismos no son aniquilados sino sólo inhibidos cuando tienen contacto con el antimicrobiano durante un tiempo corto. Entre más prolongada sea la incubación, mayor la probabilidad de que surjan mutantes resistentes o de que los miembros menos sensibles de la población empiecen a multiplicarse conforme el fármaco se degrada.

Actividad metabólica de los microorganismos

En general, los microorganismos que proliferan rápida y activamente son más sensibles a la acción farmacológica que los que se encuentran en fase de reposo. Los microorganismos inactivos desde el punto de vista metabólico que sobreviven al contacto prolongado con un fármaco, en ocasiones tienen descendencia que es sensible al mismo medicamento.

MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

La sensibilidad de una bacteria patógena a un antimicrobiano se mide por medio de dos métodos principales: dilución o difusión. Es importante utilizar un método estandarizado que regule todos los factores que repercuten en la actividad antimicrobiana; en Estados Unidos, estas pruebas se realizan según los métodos del *Clinical and Laboratory Standards Institute* [CLSI] (antiguamente *National Committee for Clinical Laboratory Standards* [NCCLS]). Estas pruebas también se describen en el capítulo 47.

Utilizando el microorganismo de prueba correcto y una muestra conocida del fármaco para fines de comparación, estos métodos se utilizan para establecer la potencia del antibiótico en la muestra o la sensibilidad del microorganismo.

Método de dilución

En este método se incorporan cantidades escalonadas de antimicrobianos a un medio bacteriológico líquido o sólido. Por lo general se utilizan diluciones del doble (log_2) de las sustancias antimicrobianas. Posteriormente los medios son inoculados con bacterias de prueba y se incuban. El criterio de valoración corresponde a la cantidad de sustancia antimicrobiana necesaria para inhibir la proliferación de la bacteria de prueba o su aniquilación. Las pruebas de sensibilidad por dilución en agar son tardadas y su aplicación se limita a circunstancias especiales. Las pruebas de dilución en caldo eran engorrosas y se usaban poco cuando era necesario hacer diluciones en tubos de ensayo; sin embargo, el advenimiento de series preparadas de dilución en caldo para diversos fármacos en placas de microdilución, ha mejorado y simplificado considerablemente este método. La ventaja de las pruebas de microdilución en caldo es que permiten obtener un resultado cuantitativo, indicando la cantidad necesaria de determinado fármaco para inhibir (o aniquilar) al microorganismo investigado.

Método de difusión

El método más utilizado es la prueba de difusión en disco. Se coloca un disco de papel filtro que contiene determinada cantidad de un fármaco en la superficie de un medio sólido en el que se ha sembrado el microorganismo investigado. Después de la incubación, se mide el diámetro de la zona transparente de inhibición que rodea al disco como medida del poder de inhibición que tiene el fármaco contra el microorganismo investigado. Este método está sujeto a una serie de factores físicos y químicos además de la interacción simple entre el fármaco y el microorganismo (p. ej., la naturaleza del medio y el potencial de difusión, el tamaño molecular y la estabilidad del fármaco). Sin embargo, la estandarización de estas circunstancias permite establecer la sensibilidad del microorganismo.

La interpretación de los resultados de las pruebas de difusión se debe basar en comparaciones entre métodos de dilución y difusión. Estas comparaciones han ocasionado la creación de referencias estándar. Las curvas de regresión lineal expresan la relación entre el logaritmo de la concentración mínima inhibidora en las pruebas de dilución y el diámetro de las zonas de inhibición en las pruebas de difusión.

Si se utiliza un solo disco para cada antibiótico con estandarización cuidadosa de las condiciones de la prueba, es posible establecer si un microorganismo es sensible o resistente al comparar el tamaño de la zona de inhibición con un estándar del mismo fármaco.

La inhibición alrededor de un disco que contiene cierta cantidad de un antimicrobiano, no significa que el microorganismo sea sensible a esa misma concentración por mililitro de medio de cultivo, sangre u orina.

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA *IN VIVO*

El análisis de la actividad del antimicrobiano *in vivo* es mucho más complejo que las circunstancias *in vitro*. La actividad abarca no sólo al fármaco y al microorganismo sino también a un tercer factor, el hospedador. En los siguientes párrafos se describirán las relaciones entre fármaco y microorganismo patógeno y entre hospedador y microorganismo patógeno. Las relaciones entre hospedador y fármaco (absorción, excreción, distribución, metabolismo y efectos adversos) se describen principalmente en los textos de farmacología.

RELACIONES ENTRE FÁRMACO Y MICROORGANISMO PATÓGENO

En las páginas precedentes se han descrito varias interacciones importantes entre el fármaco y el microorganismo patógeno. A continuación se resumen otros factores importantes *in vivo*.

Ambiente

En el hospedador, las influencias ambientales variables repercuten en los microorganismos ubicados en los distintos tejidos y diferentes regiones del cuerpo, a diferencia del tubo de ensayo o la caja de Petri, donde el ambiente es constante para todos los miembros de una población microbiana. Por lo tanto, la respuesta de la población microbiana es mucho menos uniforme en el hospedador que en el tubo de ensayo.

A. Estado de actividad metabólica

En el cuerpo, el estado de la actividad metabólica es variado; indudablemente, muchos microorganismos tienen una actividad reducida de biosíntesis y por lo tanto son relativamente insensibles a la acción farmacológica. Estos microorganismos "latentes" a menudo sobreviven al contacto con una gran concentración de fármacos y posteriormente generan una recaída clínica de la infección.

B. Distribución del fármaco

En el cuerpo, la distribución del antimicrobiano en los tejidos y líquidos es desigual. Muchos medicamentos no llegan al sistema nervioso central. A menudo la concentración en la orina es mucho mayor que la concentración en sangre u otros tejidos. Otras veces la respuesta del tejido que induce el microorganismo lo protege del fármaco. El tejido necrótico y el pus absorben el fármaco e impiden su contacto con la bacteria.

C. Ubicación de los microorganismos

En el cuerpo, los microorganismos a menudo se ubican dentro de las células de los tejidos. Los fármacos penetran en estas células a distinta velocidad. Algunos (p. ej., tetraciclinas) alcanzan la misma concentración dentro de los monocitos y en el líquido extracelular. Otros (p. ej., gentamicina) probablemente no penetran en las células del hospedador. Esto a diferencia del tubo de ensayo, donde los microorganismos tienen contacto directo con el fármaco.

D. Sustancias que interfieren

El ambiente bioquímico de los microorganismos en el cuerpo es muy complejo e interfiere considerablemente con la acción farmacológica. Algunas veces el fármaco es retenido por la sangre y las proteínas o fosfolípidos de los tejidos; otras veces reacciona con los ácidos nucleicos del pus y es absorbido hacia los exudados, células y restos necróticos. En el tejido necrótico, el pH llega a ser muy ácido y, por lo tanto, poco favorable para la acción farmacológica (p. ej., aminoglucósidos).

Concentración

En el cuerpo, los microorganismos no tienen contacto con una concentración constante de fármaco; en el tubo de ensayo sí lo hacen.

A. Absorción

La absorción de los fármacos a partir del aparato digestivo (si se administran por vía oral) o de los tejidos (si se inyectan) es irregular. Además, el fármaco se excreta y desactiva continuamente. Por lo tanto, la concentración del fármaco en los compartimientos del cuerpo varía continuamente y los microorganismos tienen contacto con distintas concentraciones del antimicrobiano.

B. Distribución

La distribución de los fármacos varía considerablemente en los distintos tejidos. Algunos fármacos penetran muy poco en cier-

tos tejidos (p. ej., sistema nervioso central, próstata). Por lo tanto, la concentración del fármaco después de la administración sistémica no siempre es la correcta para el tratamiento efectivo. En las heridas superficiales o mucosas como conjuntivas, la aplicación local (tópica) de fármacos que se absorben muy poco permite alcanzar una concentración local efectiva sin tener efectos adversos. Por el contrario, algunos fármacos que se aplican por vía tópica en las heridas superficiales se absorben muy bien. Por lo general la concentración de los fármacos en la orina es mucho mayor que en la sangre.

C. Inestabilidad de la concentración

Es indispensable mantener una concentración efectiva del fármaco en el sitio donde proliferan los microorganismos infecciosos. Esta concentración se debe mantener durante el tiempo suficiente para erradicar a los microorganismos. Puesto que el fármaco se administra de manera intermitente y es absorbido y excretado en forma irregular, la concentración varía constantemente en el sitio de la infección. Para mantener una concentración suficiente del medicamento durante el tiempo necesario se debe tomar en cuenta la relación tiempo-dosis. Entre mayor sea cada dosis del medicamento, mayor será el intervalo permisible entre las dosis. Entre menor sea cada dosis, más corto será el intervalo que garantice una concentración suficiente del fármaco.

D. Efecto posantibiótico

El efecto posantibiótico es la proliferación tardía de las bacterias después de haber sido expuestas a los antimicrobianos. Es una propiedad de la mayor parte de los antimicrobianos, pero muchos lactámicos β no exhiben efecto posantibiótico con los bacilos gramnegativos. Los carbapenémicos no exhiben efecto posantibiótico con los bacilos gramnegativos. Los aminoglucósidos y fluoroquinolonas tienen efectos posantibióticos *in vitro* prolongados (hasta de varias horas) contra los bacilos gramnegativos.

RELACIONES ENTRE HOSPEDADOR Y MICROORGANISMO PATÓGENO

Las relaciones entre el hospedador y el microorganismo patógeno son modificadas por los antimicrobianos de varias formas.

Modificación de la respuesta de los tejidos

La respuesta inflamatoria del tejido a las infecciones se modifica si el fármaco suprime la multiplicación de microorganismos pero no los elimina del cuerpo. De esta manera, un problema agudo se transforma en uno crónico. Por el contrario, la supresión de las reacciones inflamatorias en los tejidos por un deterioro de la inmunidad celular en los receptores de trasplantes de tejidos, pacientes sometidos a tratamiento antineoplásico o pacientes inmunodeprimidos por alguna enfermedad (p. ej., sida) aumenta la predisposición a padecer infecciones y deteriora la respuesta a los antimicrobianos.

Modificación de la respuesta inmunitaria

Cuando una infección es modificada por un antimicrobiano, en ocasiones también se modifica la respuesta inmunitaria del hospedador. El siguiente ejemplo ilustra dicho fenómeno: después de una infección faríngea por estreptococo hemolítico β del grupo A, a menudo aparecen anticuerpos antiestreptocócicos y, en presencia de una respuesta hiperinmune, el paciente padece fiebre reumática. Cuando el proceso infeccioso se interrumpe de manera oportuna y completa con un antimicrobiano, es posible prevenir la respuesta inmunitaria y la fiebre reumática (al parecer, esto es posible al eliminar rápidamente el antígeno). Los fármacos y las dosis que erradican con rapidez al estreptococo patógeno (p. ej., penicilina) son más efectivos para prevenir la fiebre reumática que aquellos que únicamente suprimen al microorganismo en forma temporal (p. ej., tetraciclinas).

Modificación de la flora microbiana

Los antimicrobianos repercuten no sólo en los microorganismos que causan enfermedades sino también en los miembros sensibles de la flora microbiana normal. De esta manera se crea un desequilibrio que en ocasiones causa una enfermedad. Los ejemplos siguientes son interesantes:

1. En pacientes que se encuentran hospitalizados y que reciben antimicrobianos, se suprime la flora microbiana normal. Se crea un vacío parcial que es llenado por los microorganismos más abundantes del ambiente, en especial bacterias aerobias gramnegativas farmacorresistentes (p. ej., pseudomonas, estafilococos). Posteriormente estos microorganismos producen superinfecciones graves resistentes a fármacos.
2. En las mujeres que consumen antibióticos por vía oral, muchas veces se suprime la flora vaginal normal, lo que permite el crecimiento excesivo de *Candida*. El resultado es una inflamación local desagradable (vulvovaginitis) con prurito difícil de contener.
3. La obstrucción urinaria provoca la tendencia a infecciones vesicales. Cuando esta infección urinaria es producida por un microorganismo sensible (p. ej., *E. coli*) y se trata con el fármaco correspondiente, el microorganismo es erradicado. No obstante, muchas veces después de eliminar al microorganismo sensible al fármaco aparece una reinfección secundaria a un bacilo gramnegativo farmacorresistente. Lo mismo sucede en las superinfecciones respiratorias de los pacientes que reciben antimicrobianos por una bronquitis crónica.
4. En las personas que reciben antibióticos durante varios días se suprimen algunas porciones de la flora intestinal normal. Ciertos microorganismos resistentes a los fármacos se establecen en el intestino precipitando una enterocolitis grave (*Clostridium difficile*, etc.).

APLICACIÓN CLÍNICA DE LOS ANTIBIÓTICOS

SELECCIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS

La selección racional de los antimicrobianos depende de las consideraciones siguientes.

Diagnóstico

Es necesario formular un diagnóstico causal específico. Con frecuencia esto es posible con base en la impresión clínica. Por lo tanto, en la neumonía lobar típica o en la infección urinaria aguda, la relación entre el cuadro clínico y el microorganismo causal es lo suficientemente constante como para permitir seleccionar el antibiótico de elección con base en la impresión clínica exclusivamente. Sin embargo, incluso en estos casos y como medida de seguridad contra un error en el diagnóstico, es preferible obtener una muestra representativa para su estudio bacteriológico antes de empezar con cualquier antimicrobiano.

En la mayor parte de las infecciones, la relación entre el microorganismo causal y el cuadro clínico no es constante. Por consiguiente, es importante obtener las muestras correspondientes para la identificación bacteriológica del microorganismo causal. Tan pronto como se han obtenido estas muestras se puede empezar con la quimioterapia basada en la "mejor suposición". Una vez que se identifica el microorganismo causal por medio de laboratorio, el régimen inicial se modifica según sea necesario.

La "mejor suposición" del microorganismo causal se basa en las consideraciones siguientes, entre otras: 1) el sitio de la infección (p. ej., neumonía, infección urinaria); 2) la edad del paciente (p. ej., meningitis: recién nacido, niño pequeño, adulto); 3) el lugar donde se adquirió la infección (hospital o fuera del hospital); 4) factores mecánicos predisponentes (catéter vascular a permanencia, sonda urinaria, respirador, contacto con algún vector), y 5) factores predisponentes del hospedador (inmunodeficiencia, uso de corticoesteroides, trasplante, quimioterapia contra el cáncer, etc.).

Cuando se conoce el microorganismo causal de una infección clínica, el fármaco de elección se selecciona con base en la experiencia clínica actual. En los demás contextos, es necesario realizar estudios de laboratorio sobre sensibilidad a los antimicrobianos (véase más adelante) para establecer el fármaco de elección.

Pruebas de sensibilidad

Está indicado realizar pruebas de laboratorio de sensibilidad a los antimicrobianos en las circunstancias siguientes: 1) cuando el microorganismo que se obtiene es de una variedad que suele ser resistente a los antimicrobianos (p. ej., bacterias intestinales gramnegativas); 2) cuando una infección probablemente es mortal a menos que reciba tratamiento específico (p. ej., meningitis, septicemia), y 3) en ciertas infecciones donde la erradicación del microorganismo obliga a utilizar fármacos que son rápidamente bactericidas, no sólo bacteriostáticos (p. ej., endocarditis infecciosa). En la primera parte de este capítulo se describieron los principios básicos de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos. En el capítulo 47 se resumen otros aspectos de las pruebas de laboratorio sobre sensibilidad a los antimicrobianos.

RIESGOS DEL USO INDISCRIMINADO

Las indicaciones para administrar antibióticos algunas veces se deben facultar por las inquietudes siguientes:

1. Sensibilización generalizada de la población, con la resultante hipersensibilidad, anafilaxia, eritema, fiebre, trastornos hematológicos, hepatitis colestásica y quizá conjuntivopatías y vasculopatías.
2. Cambios en la flora normal del organismo, donde la enfermedad es resultado de una "superinfección" por la proliferación excesiva de microorganismos resistentes a los fármacos.
3. Ocultamiento de una infección grave sin erradicarla. Por ejemplo, las manifestaciones clínicas de un absceso se suprimen mientras la infección continúa.
4. Toxicidad directa del medicamento (p. ej., granulocitopenia o trombocitopenia con cefalosporinas y penicilinas y nefropatía o lesión del nervio auditivo por aminoglucósidos).
5. Aparición de farmacorresistencia en poblaciones microbianas, principalmente al eliminar a los microorganismos sensibles a los fármacos del ambiente saturado de antibióticos (p. ej., hospitales) y su sustitución por microorganismos farmacorresistentes.

ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS EN COMBINACIÓN

Indicaciones

Las posibles razones para utilizar dos o más antimicrobianos simultáneamente en lugar de un solo fármaco son las siguientes:

1. Administrar tratamiento inmediato a un paciente muy grave con sospecha de una infección microbiana peligrosa. Se hace una buena suposición, por lo general basada en el resultado del antibiograma, sobre los dos o tres microorganismos patógenos más probables y de esa manera se eligen los medicamentos. Antes de iniciar este tratamiento, es indispensable tomar las muestras correspondientes para identificar al microorganismo causal en el laboratorio. Dos de las principales indicaciones en esta categoría son la sospecha de septicemia por gramnegativos o estafilococo en un paciente inmunodeprimido y la meningitis bacteriana en los niños.
2. Para retrasar el surgimiento de mutantes microbianos resistentes a un fármaco en infecciones crónicas al utilizar un segundo o tercer fármaco que no tenga reacciones cruzadas. El ejemplo más importante es la tuberculosis activa.
3. Para tratar infecciones mixtas, especialmente las que son secundarias a un traumatismo masivo o las que abarcan estructuras vasculares. Cada fármaco se dirige contra un microorganismo patógeno importante.
4. Para lograr sinergia bactericida o proporcionar acción bactericida (véase más adelante). En algunas infecciones, por ejemplo, septicemia enterocócica, una combinación de fármacos tiene más probabilidades de erradicar la infección que cualquiera de los medicamentos utilizados en forma aislada. Este tipo de sinergia se puede pronosticar sólo parcialmente y un determinado par de medicamentos puede ser sinérgico únicamente para una sola cepa microbiana. En ocasiones, la aplicación simultánea de dos fármacos permite reducir lo suficiente la dosis y de esta manera evitar los efectos adversos conservando una acción antimicrobiana satisfactoria.

Desventajas

Al utilizar antimicrobianos combinados se deben tomar en consideración las desventajas siguientes:

1. En ocasiones el médico piensa que, al administrar varios fármacos, está haciendo todo lo posible por el paciente, con lo que se esfuerza menos para establecer un diagnóstico específico. Además le da un sentimiento falso de seguridad.
2. Entre más fármacos se administran, mayor es la probabilidad de que ocurra una reacción farmacológica o de que el paciente se sensibilice a los medicamentos.
3. El costo es innecesariamente elevado.
4. Las combinaciones de antimicrobianos por lo general no logran más que un solo fármaco efectivo.
5. En raras ocasiones, un fármaco antagoniza al segundo medicamento que se administra simultáneamente (véase más adelante).

Mecanismos

Cuando dos antimicrobianos actúan simultáneamente sobre una población microbiana homogénea, el efecto puede ser uno de los siguientes: 1) indiferencia, es decir, la acción combinada no es mayor que la del fármaco más efectivo cuando se utiliza en forma aislada; 2) adición, esto es, la acción combinada es equivalente a la suma de las acciones de cada fármaco cuando se utiliza en forma aislada; 3) sinergia, esto es, la acción combinada es mucho mayor que la suma de ambos efectos, o 4) antagonismo, es decir, la acción combinada es menor que la del fármaco más efectivo cuando se utiliza en forma aislada. Todos estos efectos se pueden observar *in vitro* (especialmente en términos de índice bactericida) e *in vivo*.

Los efectos que se obtienen con combinaciones de antimicrobianos varían con las distintas combinaciones y son específicos para cada cepa de microorganismo. Por lo tanto, ninguna combinación es sinérgica de manera uniforme.

La terapia combinada no se debe utilizar en forma indiscriminada; se debe hacer lo posible por utilizar un solo antibiótico de elección. En las infecciones resistentes, un análisis de laboratorio detallado define las combinaciones sinérgicas que son indispensables para erradicar a los microorganismos.

En distintos tipos de situaciones ocurre **sinergia antimicrobiana**. Las combinaciones de fármacos sinérgicos se deben seleccionar por medio de procedimientos complejos de laboratorio.

1. En ocasiones dos medicamentos bloquean de manera secuencial una vía metabólica microbiana. Las sulfonamidas inhiben la utilización de ácido *p*-aminobenzoico extracelular en algunos microbios para la síntesis de ácido fólico. El trimetoprim o pirimetamina inhiben el siguiente paso metabólico, la reducción de ácido dihidrofólico a ácido tetrahidrofólico. El uso simultáneo de una sulfonamida con trimetoprim es efectivo en algunas infecciones bacterianas (shigelosis, salmonelosis, serratia) y de otro tipo (neumocistosis, paludismo). En la toxoplasmosis se utiliza la pirimetamina con una sulfonamida o clindamicina.
2. Algunos fármacos como los inhibidores de la pared celular (penicilina o cefalosporina) fomentan la entrada del aminoglucósido en la bacteria y de esta manera producen efectos sinérgicos. Las penicilinas fomentan la captación de gentamicina o estreptomicina en el enterococo. De esta manera, la ampicilina combinada con gentamicina es indispensable para la erradicación de *Enterococcus faecalis,* especialmente en la endocarditis. Asimismo, la piperacilina con tobramicina son sinérgicos contra ciertas cepas de *Pseudomonas*.
3. En algunas ocasiones un fármaco modifica la membrana celular y facilita la penetración de un segundo fármaco. De esta manera el efecto combinado es mayor que la suma de sus partes. Por ejemplo, la anfotericina es sinérgica con la flucitocina contra algunos hongos (p. ej., *Cryptococcus, Candida*).
4. Otras veces un fármaco impide la inactivación de un segundo fármaco a través de las enzimas microbianas. Así, los inhibidores de la lactamasa β (p. ej., ácido clavulánico, sulbactam, tazobactam) protegen a la amoxicilina, ticarcilina o piperacilina de la inactivación a través de las lactamasas β. En estos casos, ocurre un tipo de sinergia.

El **antagonismo antimicrobiano** está limitado por las relaciones entre tiempo y dosis y, por lo tanto, constituye un acontecimiento raro en la antibioticoterapia clínica. El antagonismo que provoca un mayor índice de morbilidad y mortalidad se ha demostrado con mayor claridad en la meningitis bacteriana. Ocurrió cuando un bacteriostático (que inhibe la síntesis de proteínas en las bacterias) como cloranfenicol o tetraciclina, se administró con un bactericida como penicilina o un aminoglucósido. El antagonismo ocurrió principalmente cuando el bacteriostático llegaba al sitio de la infección antes que el bactericida; si era indispensable aniquilar para lograr la curación; y únicamente si se habían administrado las dosis mínimas efectivas de cualquiera de los fármacos. Otro ejemplo es la combinación de lactámicos β en el tratamiento de las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* (p. ej., imipenem y piperacilina, donde el imipenem es un inductor potente de la lactamasa β y la lactamasa β degrada a la piperacilina que es menos estable).

QUIMIOPROFILAXIS ANTIMICROBIANA

La quimioprofilaxis antiinfecciosa implica la administración de antimicrobianos para prevenir las infecciones. En un sentido más amplio, también comprende la aplicación de antimicrobianos poco después de adquirir microorganismos patógenos (p. ej., después de una fractura expuesta) pero antes de que aparezcan los signos de infección.

La quimioprofilaxis útil se limita a la acción de un fármaco específico sobre cierto microorganismo. El intento de evitar que cualquier tipo de microorganismo ambiental se establezca por sí mismo, sólo selecciona a los microorganismos más resistentes a los fármacos como causa de una infección ulterior. En las aplicaciones propuestas de los antimicrobianos profilácticos, el riesgo de que un paciente adquiera la infección se debe comparar con sus efectos adversos, costos, inconveniencias y mayor riesgo de una superinfección a causa del medicamento profiláctico.

Profilaxis en personas con sensibilidad normal expuestas a un microorganismo patógeno específico

En esta categoría, se administra un medicamento específico para prevenir cierta infección. Algunos ejemplos sobresalientes son la inyección de penicilina G benzatínica por vía intramuscular una vez cada tres a cuatro semanas para prevenir la reinfección con el estreptococo hemolítico del grupo A en los pacientes con fiebre reumática; prevención de la meningitis por medio de la erradicación del estado de portador meningocócico con rifampicina; prevención de sífilis por medio de la inyección de penicilina G benzatínica; prevención de neumonía por peste por medio de la administración de tetraciclina por vía oral en personas expuestas a gotículas infecciosas; prevención de rickettsiosis clínica (mas no de la infección) por medio de la ingestión diaria de tetraciclinas durante la exposición; y prevención de leptospirosis por medio de la administración oral de doxiciclina en un ambiente hiperendémico.

El tratamiento precoz de una infección asintomática en ocasiones se denomina profilaxis. De esta manera, la administración de isoniazida, 6 a 10 mg/kg/día (máximo 300 mg/día) por vía oral durante seis meses en una persona asintomática cuya prueba cutánea de la tuberculina se torna positiva, previene la tuberculosis activa más adelante.

Profilaxis en personas con mayor susceptibilidad

Ciertas anormalidades anatómicas o funcionales predisponen a padecer infecciones graves. Estas infecciones se pueden prevenir o bien abortar administrando determinado fármaco durante un periodo corto. A continuación se describen algunos ejemplos importantes.

A. Cardiopatías

Los individuos con anormalidades de las válvulas cardiacas o con prótesis valvulares cardiacas tienen mayor predisposición a la implantación de los microorganismos que circulan en el torrente sanguíneo. Esta endocarditis infecciosa se puede prevenir en ocasiones si se administra el fármaco correcto durante los periodos de bacteriemia. Durante los tratamientos dentales y las operaciones de boca o garganta, un gran número de *Streptococcus viridans* entra a la circulación. En estas circunstancias, el riesgo justifica la administración de algún antimicrobiano profiláctico contra este microorganismo. Por ejemplo, la amoxicilina antes del procedimiento y dos horas después es efectiva. Las personas que son alérgicas a la penicilina pueden recurrir a la eritromicina por vía oral. Se puede utilizar un régimen posológico tanto por vía oral como parenteral.

El enterococo causa entre 5 y 15% de los casos de endocarditis infecciosa. Llega al torrente sanguíneo desde los aparatos urinario, digestivo o genital femenino. Durante los procedimientos que se realizan en estas regiones, si el paciente está infectado o colonizado con enterococo, se le debe administrar ampicilina combinada con aminoglucósido (p. ej., gentamicina) por vía intramuscular o intravenosa 30 minutos antes del procedimiento al individuo con anormalidades y prótesis valvulares cardiacas.

Durante el cateterismo cardiaco y después, el hemocultivo es positivo en 10 a 20% de los pacientes. Muchas de estas personas padecen también fiebre, pero muy pocas adquieren endocarditis. Al parecer los antibióticos profilácticos no modifican estos acontecimientos.

B. Infecciones de las vías respiratorias

El trimetoprim-sulfametoxazol por vía oral o la pentamidina por aerosol se usan para la profilaxis en caso de neumonía por *Pneumocystis* en los pacientes con sida.

C. Infección urinaria recurrente

En algunas mujeres que sufren infecciones urinarias recurrentes y frecuentes, la administración oral de nitrofurantoína o trimetoprim-sulfametoxazol, ya sea diariamente o tres veces por semana, reduce considerablemente la frecuencia de las recurrencias sintomáticas durante periodos prolongados.

Algunas mujeres tienden a manifestar síntomas de cistitis después del coito. La ingestión de una sola dosis de un antimicrobiano (nitrofurantoína, trimetoprim-sulfametoxazol, etc.) previene la cistitis poscoital al inhibir de inmediato la proliferación de las bacterias que se desplazan del introito hacia el tercio proximal de la uretra o vejiga durante las relaciones sexuales.

D. Infecciones oportunistas en la granulocitopenia grave

Muchos pacientes con inmunodepresión que reciben un trasplante de un órgano o quimioterapia antineoplásica manifiestan leucopenia pronunciada. Cuando el recuento de neutrófilos desciende por debajo de 1 000/μl, estos individuos son muy propensos a padecer infecciones oportunistas, por lo general septicemia por gramnegativos. En estas personas en ocasiones se administra una fluoroquinolona, cefalosporina o una combinación de fármacos (p. ej., vancomicina, gentamicina, cefalosporina) contra los oportunistas más frecuentes al primer signo (o incluso sin evidencia clínica) de infección. El tratamiento se prolonga durante varios días hasta que el recuento de granulocitos se eleva de nuevo. Diversos estudios sugieren que el tratamiento empírico es favorable. Los dos casos clínicos, trasplantes de hígado y médula ósea, que se describen en el capítulo 48, ilustran las infecciones que ocurren en estos pacientes y los antimicrobianos utilizados para la profilaxis y el tratamiento.

Profilaxis en cirugía

Gran parte de los antimicrobianos utilizados en los hospitales se emplea en los servicios de cirugía y su supuesto objetivo es la profilaxis.

Vale la pena mencionar una serie de características generales de la profilaxis quirúrgica:

1. En las cirugías electivas limpias (es decir, técnicas durante las cuales no se atraviesa tejido con flora normal que no sea la piel preparada), las desventajas de la profilaxis antimicrobiana "sistemática" (alergia, efectos adversos, superinfección) superan los posibles beneficios con excepción de los casos en los que se introduce algún dispositivo (p. ej., prótesis de cadera). Sin embargo, incluso en una hernioplastia

"limpia" una sola dosis preoperatoria de una cefalosporina ofrece beneficios cuantificables.
2. La administración profiláctica de antibióticos sólo se debe considerar cuando el índice esperado de complicaciones infecciosas es de 3 a 5%. Una excepción a esta regla es la introducción electiva de prótesis (cardiovasculares, ortopédicas), donde la posible infección tendría efectos catastróficos.
3. La dosis inicial del antibiótico profiláctico administrado por vía general se administra en el momento de la inducción de la anestesia. Una excepción es la cirugía electiva de colon, en cuyo caso se administran antibióticos por vía oral varias horas antes del procedimiento.
4. La administración prolongada de antimicrobianos tiende a modificar la flora normal de los órganos y sistemas, suprimiendo a los microorganismos propensos y favoreciendo la implantación de los fármacos resistentes. Por consiguiente, la profilaxis antimicrobiana no se debe prolongar durante más de un día después del procedimiento y lo ideal es limitarla al momento de la cirugía.
5. La concentración general del antimicrobiano no suele prevenir la infección de las heridas, la neumonía ni las infecciones urinarias cuando existen anormalidades fisiológicas o cuerpos extraños.

La utilidad de los antimicrobianos tópicos para profilaxis (en el sitio del catéter intravenoso, el sistema cerrado de drenaje urinario, dentro de una herida quirúrgica, en el cemento óseo de acrílico, etc.) es muy limitada.

Los estudios más recientes han demostrado una mayor morbilidad y mortalidad con las infecciones posquirúrgicas de la herida por *S. aureus*, en especial cuando la infección es causada por una cepa resistente a la meticilina (MRSA, *methicillin-resistant S. aureus*). En muchos hospitales se realizan pruebas de detección en las narinas antes de la cirugía en busca de MRSA por medio de cultivo o detección de ácidos nucleicos. Los pacientes colonizados reciben tratamiento con pomada de mupirocina en las narinas durante tres a cinco días y clorhexidina durante el baño para eliminar la colonización antes del procedimiento.

Desinfectantes

Los desinfectantes y antisépticos difieren de los antimicrobianos activos por vía general en el sentido de que poseen una toxicidad selectiva reducida: son tóxicos no sólo para los microorganismos patógenos sino también para la mayor parte de las células del hospedador. Por lo tanto, sólo se utilizan para desactivar a los microorganismos en el ambiente inanimado o, en grado limitado, sobre las superficies cutáneas. No se pueden administrar por vía sistémica.

La acción antimicrobiana de los desinfectantes depende de su concentración, el tiempo y la temperatura y la valoración de su efecto es compleja. En el cuadro 28-2 aparecen ejemplos de desinfectantes utilizados en medicina o salud pública.

ANTIMICROBIANOS QUE SE ADMINISTRAN POR VÍA SISTÉMICA

En el cuadro 28-3 aparece una lista de microorganismos infecciosos y los fármacos de elección principales y sus alternativas.

PENICILINAS

Las penicilinas se derivan de mohos del género *Penicillium* (p. ej., *Penicillium notatum*) y se obtienen extrayendo cultivos sumergidos en medios especiales. La penicilina natural más utilizada es la penicilina G. Ya se ha logrado aislar ácido 6-aminopenicilánico a gran escala a partir de infusiones fermentadas de *Penicillium*. De esta manera es posible sintetizar una variedad casi ilimitada de compuestos a base de penicilina combinando el grupo amino libre del ácido penicilánico con el grupo carboxilo libre de distintos radicales.

Las penicilinas comparten la misma estructura básica (véase ácido 6-aminopenicilánico en la figura 28-1). Un anillo de tiazolidina se adhiere al anillo lactámico β que transporta un grupo amino libre. Los radicales ácidos adheridos al grupo amino se separan por medio de amidasas bacterianas y de otro tipo. La integridad estructural del núcleo del ácido 6-aminopenicilánico es indispensable para la actividad biológica de los compuestos. Si el anillo lactámico β se divide por medio de lactamasas β (penicilinasas), el producto resultante, ácido peniciloico, carece de actividad antibacteriana. No obstante, transporta un determinante antigénico de las penicilinas y actúa como hapteno sensibilizador cuando se adhiere a proteínas portadoras.

Los radicales (R) distintos adheridos al ácido aminopenicilánico determinan las propiedades farmacológicas esenciales de los fármacos resultantes. Las penicilinas más importantes en medicina pertenecen a cuatro grupos principales: 1) mayor actividad contra microorganismos grampositivos, espiroquetas y otros, pero propensa a la hidrólisis a través de lactamasas β y lábiles en medio ácido (p. ej., penicilina G); 2) resistencia relativa a las lactamasas β pero menor actividad contra los microorganismos grampositivos y actividad nula contra los gramnegativos (p. ej., nafcilina); 3) actividad relativamente alta contra microorganismos grampositivos y gramnegativos pero son destruidas por las lactamasas β (p. ej., ampicilina, piperacilina), y 4) estabilidad relativa en el ácido gástrico, por lo que se puede administrar por vía oral (p. ej., penicilina V, cloxacilina, amoxicilina). En la figura 28-1 se muestran algunos ejemplos. La mayor parte de las penicilinas se distribuye en forma de sales de sodio o potasio del ácido libre. La penicilina G potásica contiene aproximadamente 1.7 meq de K^+ por millón de unidades (2.8 meq/g). Las sales procaínicas y benzatínicas de penicilina ofrecen presentaciones de depósito para inyección intramuscular. En su presentación seca las penicilinas son estables, pero las soluciones pierden rápidamente su actividad, por lo que se deben preparar inmediatamente antes de su administración.

Actividad antimicrobiana

El primer paso en la acción de la penicilina es la unión del fármaco con los receptores celulares. Estos receptores son PBP, algunas de las cuales son enzimas que participan en reacciones de transpeptidación. Existen entre tres y seis (o más) PBP por célula. Una vez que las moléculas de penicilina se adhieren a los receptores, se inhibe la síntesis de peptidoglucano cuando se bloquea la transpeptidación final. El último acontecimiento bactericida es la eliminación o inactivación de un inhibidor de las enzimas autolíticas en la pared celular. Esto activa a las enzimas autolíticas provocando lisis celular. De esta manera, los lactámicos β inhiben a los microorganismos con una función

CUADRO 28-2 Desinfectantes químicos, antisépticos y antimicrobianos tópicos

Desinfección del ambiente inanimado	
Cubiertas, instrumentos	Lisol y otros compuestos fenólicos
	Formaldehído
	Glutaraldehído acuoso
	Compuestos de amonio cuaternario
Excretas, apósitos, cómodos	Hipoclorito de sodio
	Lisol y otros compuestos fenólicos
Aire	Propilenglicol pulverizado o en aerosol
	Vapor de formaldehído
Instrumentos termosensibles	Gas de óxido de etileno (alquila los ácidos nucleicos; el gas residual debe eliminarse por ventilación)
Desinfección de la piel o heridas	Lavar con agua y jabón
	Jabones o detergentes que contengan hexaclorofeno, triclocarbanilida o clorhexidina
	Tintura de yodo
	Alcohol etílico; alcohol isopropílico
	Yodo-povidona (hidrosoluble)
	Perácidos (peróxido de hidrógeno, ácido peracético)
	Gel o solución de nitrofurazona
Fármacos tópicos para la piel o las mucosas	
Candidosis	Crema de nistatina
	Pomada de candicidina
	Cremas de miconazol
Quemaduras	Crema de acetato de mafenida
	Sulfadiazina argéntica
Dermatofitosis	Polvo o crema de ácido undecilénico
	Crema de tolnaftato
	Crema de azol
Piodermia	Pomada de bacitracina-neomicina-polimixina
	Permanganato de potasio
Pediculosis	Loción de malatión o permetrina
Descolonización nasal	Mupirocina
Aplicación tópica de fármacos oculares	
Profilaxis de gonorrea	Pomada de eritromicina o tetraciclina
Conjuntivis bacteriana	Pomada de sulfacetamida
	Pomada de gentamicina o tobramicina
	Pomada de ciprofloxacina
	Solución oftálmica de moxifloxacina
	Solución de gatifloxacina
	Solución de levofloxacina

defectuosa de la autolisina pero no los aniquila y por lo tanto se dice que son “tolerantes”.

Puesto que la acción de la penicilina requiere una síntesis activa de la pared celular, los microorganismos sin actividad metabólica no son sensibles.

La penicilina G y la penicilina V suelen medirse en unidades (1 millón de unidades = 0.6 g), pero las penicilinas semisintéticas se miden en gramos. Si bien 0.002 a 1 μg/ml de penicilina G es mortal para la mayor parte de los microorganismos grampositivos sensibles, se necesitan entre 10 y 100 veces más para aniquilar bacterias gramnegativas (con excepción de *Neisseria*).

Resistencia

La resistencia a las penicilinas puede ser de diversas categorías: 1) producción de lactamasas β en los estafilococos, bacterias gramnegativas, *Haemophilus*, gonococos y otros. Se conocen más de 50 lactamasas β y su producción es regulada por plásmidos bacterianos. Algunas lactamasas β son inducibles por las cefalosporinas más modernas. 2) Ausencia de receptores de penicilina (PBP) o PBP modificadas (p. ej., neumococo, enterococo) o falta de acceso de los receptores por la presencia de barreras de permeabilidad en las membranas externas bacterianas. A me-

CUADRO 28-3 Fármacos de elección para los microorganismos patógenos sospechosos o comprobados[a]

Microorganismo causal sospechoso o comprobado	Fármaco de primera elección	Fármacos alternativos
Cocos gramnegativos		
Moraxella catarrhalis	Cefuroxima, una fluoroquinolona[c]	TMP-SMZ,[b] cefotaxima, ceftizoxima, cefpodoxima, una eritromicina,[d] una tetraciclina,[e] azitromicina, amoxicilina-ácido clavulánico, claritromicina
Neisseria gonorrhoeae (gonococo)	Ceftriaxona	Cefixima, cefotaxima, penicilina G
Neisseria meningitidis (meningococo)	Penicilina G[f]	Cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, ampicilina, cloranfenicol, una fluoroquinolona
Cocos grampositivos		
Streptococcus pneumoniae (neumococo)[h]	Penicilina G[f] o V; amoxicilina	Una eritromicina,[d] una cefalosporina,[g] vancomicina, TMP-SMZ,[b] clindamicina, azitromicina, claritromicina, una tetraciclina,[e] imipenem, meropenem o ertapenem, quinupristina-dalfopristina, ciertas fluoroquinolonas,[c] linezolida
Estreptococo hemolítico, grupos A, B, C, G	Penicilina G[f] o V; ampicilina	Una eritromicina,[d] una cefalosporina,[g] vancomicina, clindamicina, azitromicina, claritromicina, linezolida, daptomicina
Estreptococo viridans	Penicilina G[f] ± gentamicina	Una cefalosporina,[g] vancomicina
Staphylococcus, resistente a la meticilina	Vancomicina ± gentamicina ± rifampicina	TMP-SMZ,[b] doxiciclina, una fluoroquinolona,[c] linezolida, quinupristina-dalfopristina, daptomicina, tigeciclina
Staphylococcus, no productor de penicilinasa	Penicilina[f]	Una cefalosporina,[h] vancomicina, imipenem, meropenem, una fluoroquinolona,[c] clindamicina
Staphylococcus, productor de penicilinasa	Penicilina resistente a la penicilinasa[i]	Vancomicina, una cefalosporina,[g] clindamicina, amoxicilina-ácido clavulánico, ampicilina-sulbactam, piperacilina-tazobactam, imipenem, meropenem, una fluoroquinolona,[c] TMP-SMZ,[b] daptomicina, linezolida
Enterococcus faecalis	Ampicilina + gentamicina[j]	Vancomicina + gentamicina
Enterococcus faecium	Vancomicina + gentamicina[j]	Quinupristina-dalfopristina, linezolida; daptomicina
Bacilos gramnegativos		
Acinetobacter	Imipenem o meropenem	Doxiciclina, TMP-SMZ,[b] doxiciclina, aminoglucósidos,[k] ceftazidima, una fluoroquinolona,[c] piperacilina-tazobactam, sulbactam, colistina
Prevotella, cepas bucofaríngeas	Clindamicina	Penicilina,[f] metronidazol, cefoxitina, cefotetán
Bacteroides	Metronidazol	Cloranfenicol, imipenem, meropenem, ertapenem, ticarcilina-ácido clavulánico, ampicilina-sulbactam, piperacilina-tazobactam; amoxicilina/clavulanato
Brucella	Tetraciclina + rifampicina[e]	TMP-SMZ[b] ± gentamicina; cloranfenicol ± gentamicina; doxiciclina + gentamicina; ciprofloxacina + rifampicina
Campylobacter jejuni	Eritromicina[d] o azitromicina	Tetraciclina,[e] una fluoroquinolona,[c] gentamicina
Enterobacter	Imipenem, meropenem o cefepima	Aminoglucósido, ciprofloxacina, piperacilina/tazobactam, TMP-SMZ,[b] aztreonam, cefalosporina de 3ª generación, tigeciclina, aztreonam
Escherichia coli (septicemia)	Cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima	Imipenem, meropenem o ertapenem, aminoglucósidos,[k] una fluoroquinolona[c]
Escherichia coli (infección urinaria no complicada)	Fluoroquinolonas,[c] nitrofurantoína	TMP-SMZ,[b] cefalosporina oral, fosfomicina
Haemophilus (meningitis y otras infecciones graves)	Cefotaxima, ceftriaxona	Cloranfenicol, meropenem

(*Continúa*)

CUADRO 28-3 Fármacos de elección para los microorganismos patógenos sospechosos o comprobados[a] (*Continuación*)

Microorganismo causal sospechoso o comprobado	Fármaco de primera elección	Fármacos alternativos
Bacilos gramnegativos (*Continuación*)		
Haemophilus (infecciones respiratorias, otitis)	TMP-SMZ[b]	Ampicilina, amoxicilina, doxiciclina, azitromicina, claritromicina, cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, cefuroxima, cefuroxima acetilo, una fluoroquinolona, una tetraciclina, amoxicilina/clavulanato
Helicobacter pylori	Inhibidor de la bomba de protones + claritromicina + amoxicilina o metronidazol	Subsalicilato de bismuto + metronidazol + clorhidrato de tetraciclina + inhibidor de la bomba de protones o bloqueador H_2
Klebsiella pneumoniae	Cefotaxima, ceftriaxona, cefepima o ceftazidima	TMP-SMZ,[b] aminoglucósido,[k] imipenem, meropenem o ertapenem, una fluoroquinolona,[c] piperacilina/tazobactam, aztreonam, ticarcilina/clavulanato, tigeciclina
Especies de *Legionella* (neumonía)	Azitromicina, o fluoroquinolonas[c] ± rifampicina	TMP-SMZ,[b] doxiciclina ± rifampicina, eritromicina
Proteus mirabilis	Ampicilina	Un aminoglucósido,[k] TMP-SMZ,[b] una fluoroquinolona,[e] una cefalosporina,[g] imipenem, meropenem o ertapenem, ticarcilina/clavulanato, piperacilina/tazobactam
Proteus vulgaris y otras especies (*Morganella, Providencia*)	Cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima	Aminoglucósido,[k] TMP-SMZ,[b] una fluoroquiolona,[c] imipenem, meropenem o ertapenem, aztreonam, ticarcilina/clavulanato, piperacilina/tazobactam, ampicilina/sulbactam, amoxicilina/clavulanato
Pseudomonas aeruginosa	Aminoglucósido[k] + penicilina contra pseudomonas[l]	Ceftazidima ± aminoglucósido; imipenem o meropenem ± aminoglucósido; aztreonam ± aminoglucósido; ciprofloxacina; cefepima
Burkholderia pseudomallei (melioidosis)	Ceftazidima, imipenem	Cloranfenicol + tetraciclina,[e] TMP-SMZ,[b] amoxicilina-ácido clavulánico, meropenem
Burkholderia mallei (muermo)	Estreptomicina + tetraciclina[e]	Cloranfenicol + estreptomicina; imipenem
Salmonella (bacteriemia)	Cefotaxima, ceftriaxona o una fluoroquinolona[c]	TMP-SMZ,[b] ampicilina, cloranfenicol
Serratia	Imipenem o meropenem	TMP-SMZ,[b] aminoglucósidos,[k] una fluoroquinolona,[c] ceftriaxona, cefotaxima, ceftizoxima, ceftazidima, cefepima
Shigella	Una fluoroquinolona[c]	Ampicilina, TMP-SMZ,[b] ceftriaxona, azitromicina
Vibrio (cólera, septicemia)	Tetraciclina[e]	TMP-SMZ,[b] una fluoroquinolona[c]
Yersinia pestis (peste)	Estreptomicina ± una tetraciclina[e]	Cloranfenicol, TMP-SMZ,[b] ciprofloxacina, gentamicina
Bacilos grampositivos		
Actinomyces	Penicilina[f]	Doxiciclina,[e] clindamicina, eritromicina
Bacillus (incluido carbunco)	Penicilina[f] (ciprofloxacina o doxiciclina para carbunco)	Eritromicina,[d] tetraciclina,[e] una fluoroquinolona[c]
Bacillus anthracis	Ciprofloxacina, una tetraciclina	Penicilina G, amoxicilina, eritromicina, imipenem, clindamicina, levofloxacina
Bacillus cereus (subtilis)	Vancomicina	Imipenem o meropenem, clindamicina
Clostridium (p. ej., gangrena gaseosa, tétanos)	Penicilina G,[f] clindamicina	Metronidazol, cloranfenicol, imipenem, meropenem o ertapenem
Corynebacterium diphtheriae	Eritromicina[d]	Penicilina G[f]
Corynebacterium jeikeium	Vancomicina	Penicilina G + gentamicina, eritromicina
Listeria monocytogenes	Ampicilina ± aminoglucósido[k]	TMP-SMZ[b]

(*Continúa*)

CUADRO 28-3 Fármacos de elección para los microorganismos patógenos sospechosos o comprobados[a] (*Continuación*)

Microorganismo causal sospechoso o comprobado	Fármaco de primera elección	Fármacos alternativos
Bacilos acidorresistentes		
Mycobacterium tuberculosis[m]	INH + rifampicina + pirazinamida ± etambutol o estreptomicina	Una fuoroquinolona; cicloserina; capreomicina, kanamicina o amikacina; etionamida; PAS
Mycobacterium leprae	Dapsona + rifampicina ± clofazimina	Minociclina; ofloxacina; claritromicina
Mycobacterium kansasii	INH + rifampicina ± etambutol o estreptomicina	Etionamida; cicloserina; claritromicina o azitromicina
Complejo *Mycobacterium avium*	Claritromicina o azitromicina + uno o más de los siguientes: etambutol ± rifabutina	Amikacina, ciprofloxacina
Mycobacterium fortuitum-chelonae	Amikacina + claritromicina	Cefoxitina, sulfonamida, doxiciclina, linezolida, rifampicina, etambutol
Nocardia	TMP-SMZ[b]	Imipenem o meropenem, sulfisoxazol, linezolida, una tetraciclina, amikacina, ceftriaxona; cicloserina
Espiroquetas		
Borrelia burgdorferi (borreliosis de Lyme)	Doxiciclina, amoxicilina, cefuroxima acetilo	Ceftriaxona, cefotaxima, penicilina G, azitromicina, claritromicina
Borrelia recurrentis (fiebre recurrente)	Doxiciclina[e]	Penicilina G[f], eritromicina
Leptospira	Penicilina G[f]	Doxiciclina,[e] ceftriaxona
Treponema pallidun (sífilis)	Penicilina G[f]	Doxiciclina, ceftriaxona
Treponema pertenue (frambesia)	Penicilina G[f]	Doxiciclina[e]
Micoplasmas	Eritromicina[d] o doxiciclina; claritromicina; azitromicina	Una fluoroquinolona[c]
Clamidias		
Chlamydia psittaci	Una tetraciclina	Cloranfenicol
Chlamydia trachomatis (uretritis o enfermedad inflamatoria pélvica)	Doxiciclina o azitromicina	Ofloxacina; eritromicina; amoxicilina
Chlamydia pneumoniae	Una tetraciclina, eritromicina,[d] claritromicina, azitromicina	Una fluoroquinolona[c,n]
Rickettsias	Doxiciclina	Cloranfenicol, una fluoroquinolona[c]

[a]Datos obtenidos de Med Lett Drugs Ther 5 (Issue 57), Mayo 2007.

[b]TMP-SMZ es una mezcla de una parte de trimetoprim por cinco partes de sulfametoxazol.

[c]Las fluoroquinolonas comprenden a la ciprofloxacina, ofloxacina, levofloxacina, moxifloxacina, gatifloxacina y otras (véase el texto). La gatifloxacina, levofloxacina y moxifloxacina tienen la mejor actividad contra los microorganismos grampositivos, incluidos *S. penumoniae* resistente a la penicilina y *S. aureus* sensible a la meticilina. Su actividad contra los enterococos y *S. epidermidis* es variable. La ciprofloxacina tiene la mejor actividad contra *P. aeruginosa*.

[d]El estolato de eritromicina se absorbe mejor por vía oral pero conlleva el mayor riesgo de hepatitis. También existen estearato de eritromicina y etilsuccinato de eritromicina.

[e]Todas las tetraciclinas tienen actividad similar contra la mayor parte de los microorganismos. La minociclina y doxiciclina son más activas contra *S. aureus*. La dosis se determina por la velocidad de absorción y excreción de las diversas preparaciones.

[f]La penicilina G se prefiere para inyección parenteral; la penicilina V para administración por vía oral, sólo en el tratamiento de las infecciones por microorganismos altamente sensibles.

[g]La mayor parte de las cefalosporinas intravenosas (con excepción de la ceftazidima) tienen buena actividad contra los cocos grampositivos.

[h]Se ha descrito resistencia intermedia y pronunciada a la penicilina. Las infecciones causadas por cepas con resistencia intermedia responden en ocasiones a dosis elevadas de penicilina, cefotaxima o ceftriaxona. Las infecciones causadas por cepas altamente resistentes se deben tratar con vancomicina ± rifampicina. Muchas cepas de neumococos resistentes a la penicilina son resistentes a la eritromicina, macrólidos, TMP-SMZ y cloranfenicol.

[i]Nafcilina u oxacilina parenteral; dicloxacilina, cloxacilina u oxacilina por vía oral.

[j]Está indicado agregar gentamicina únicamente en las infecciones enterocócicas graves (p. ej., endocarditis, meningitis).

[k]Los aminoglucósidos (gentamicina, tobramicina, amikacina, netilmicina) se eligen con base en los patrones locales de sensibilidad.

[l]Penicilinas contra pseudomonas: ticarcilina, piperacilina.

[m]En ocasiones la resistencia constituye un problema y se deben realizar pruebas de sensibilidad.

[n]La ciprofloxacina tiene una actividad menor contra las clamidias frente a las fluoroquinolonas más recientes.

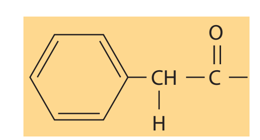
Sitio de acción de la amidasa

R — C(=O) — N(H) — CH — CH — S — C(CH3)(CH3) — CH — COOH; C(=O) — N

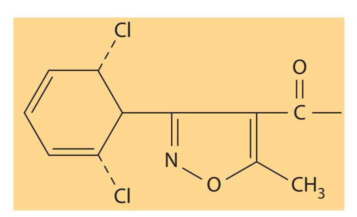
Sitio de acción de la penicilinasa (rotura del anillo lactámico β)

Ácido 6-aminopenicilánico

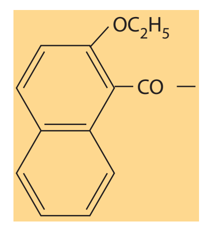
Cada una de las estructuras siguientes puede ser sustituida en R para producir una nueva penicilina.



Penicilina G (bencilpenicilina):
Gran actividad contra bacterias grampositivas.
Poca actividad contra bacterias gramnegativas.
Lábil en ácido. Destruida por lactamasa β.
60% unida a proteínas.



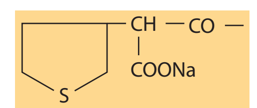
Oxacilina (sin átomos de Cl); cloxacilina (un átomo Cl en su estructura); dicloxacilina (2 átomos de Cl en su estructura); flucloxacilina (un átomo de Cl y uno F en su estructura) (isoxazolil penicilinas):
Similares a la meticilina en cuanto a su resistencia a la lactamasa β, pero estables en ácido. Se pueden administrar por vía oral.
Gran porcentaje unido a proteínas (95 a 98%).



Nafcilina (etoxinaftamidopenicilina):
Similar a las isoxazolil penicilinas. Unida con menos fuerza a proteínas (90%). Administración oral o intravenosa. Resistente a la lactamasa β estafilocócica.

CH — CO —; NH_2

Ampicilina (alfa-aminobencilpenicilina):
Similar a la penicilina G (destruida por la lactamasa β) pero estable en ácido y más activa contra bacterias gramnegativas.
La carbencilina tiene un grupo —COONa en lugar de —NH_2.



Ticarcilina:
Similar a la carbencilina pero alcanza una concentración sanguínea más elevada. La acción contra aerobios gramnegativos de la piperacilina, azlocilina y mezlocilina es similar a la de la ticarcilina.

HO — CH — CO —; NH_2

Amoxicilina:
Similar a la ampicilina pero mejor absorción y mayor concentración sanguínea.

FIGURA 28-1 Estructuras de algunas penicilinas.

nudo éstas se encuentran bajo control cromosómico. 3) Falta de activación de las enzimas autolíticas en la pared celular, lo que da como resultado la inhibición sin aniquilación de las bacterias (p. ej., tolerancia de algunos estafilococos). 4) Ausencia de síntesis de peptidoglucanos, por ejemplo, en micoplasmas, formas L, o bacterias sin actividad metabólica.

Absorción, distribución y excreción

Después de su inyección intramuscular o intravenosa, la absorción de la mayor parte de las penicilinas es rápida y completa. Después de su administración por vía oral, sólo se absorbe entre 5 y 30% de la dosis de la mayor parte de las penicilinas, lo que depende de su estabilidad en el ambiente ácido, su fijación a los alimentos, la presencia de amortiguadores, etc. La amoxicilina se absorbe bastante bien. Después de su absorción, las penicilinas se distribuyen extensamente en los tejidos y líquidos del cuerpo.

Se han diseñado presentaciones posológicas especiales diseñadas para retrasar la absorción logrando que la concentración del fármaco permanezca estable durante un periodo prolongado. Después de una sola dosis intramuscular de penicilina benzatínica de 1.5 g (2.4 millones de unidades), la concentración sérica de 0.03 unidades/ml se mantiene durante 10 días y la concentración de 0.005 unidades/ml permanece durante tres semanas. La penicilina procaínica por vía intramuscular proporciona una concentración terapéutica durante 24 horas.

En muchos tejidos, las concentraciones de penicilina son similares a las del suero. En los ojos, próstata y sistema nervioso central la concentración es menor. No obstante, en la meningitis la penetración aumenta, alcanzando una concentración de 0.5 a

5 μg/ml en el líquido cefalorraquídeo con una dosis parenteral diaria de 12 g.

La mayor parte de las penicilinas se excreta rápidamente a través del riñón. Cerca de 10% de la excreción renal se lleva a cabo por filtración glomerular y 90% por secreción tubular. Esta última se bloquea parcialmente con el probenecid para lograr una concentración mayor tanto generalizada como en el líquido cefalorraquídeo. En el recién nacido y las personas con insuficiencia renal, la excreción de penicilina disminuye y la concentración general permanece elevada durante un tiempo más prolongado. Algunas penicilinas (p. ej., nafcilina) se eliminan principalmente por mecanismos no renales.

Aplicaciones clínicas

Las penicilinas constituyen los antibióticos más utilizados, especialmente en las áreas siguientes.

La penicilina G es el fármaco de elección en la mayor parte de las infecciones causadas por estreptococos, neumococos, meningococos, espiroquetas, clostridios, bacilos aerobios grampositivos, estafilococos y gonococos no productores de penicilinasa y actinomicetos.

La penicilina G es inhibidora para el enterococo (*E. faecalis*) pero para lograr un efecto bactericida (p. ej., en la endocarditis enterocócica) se debe agregar un aminoglucósido. La penicilina G a dosis habituales se excreta en la orina a una concentración lo suficientemente elevada como para inhibir algunos microorganismos gramnegativos a menos que produzcan una gran cantidad de lactamasas β.

La penicilina G benzatínica es una sal muy poco soluble que se administra por vía intramuscular para obtener una concentración reducida pero prolongada del fármaco. Una sola inyección de 1.2 millones de unidades (0.7 g) es satisfactoria para el tratamiento de la faringitis por estreptococo del grupo A y la sífilis primaria. Esta misma inyección cada tres a cuatro semanas constituye una profilaxis satisfactoria contra la reinfección por estreptococo del grupo A en los pacientes con fiebre reumática.

La única indicación para utilizar alguna penicilina resistente a la penicilinasa, por ejemplo nafcilina u oxacilina es la infección por estafilococos productores de lactamasa β. En el caso de las infecciones estafilocócicas más leves se puede utilizar cloxacilina o dicloxacilina por vía oral. Los estafilococos resistentes a la oxacilina y nafcilina tienen el gen *mecA* y elaboran una proteína de unión a la penicilina con una afinidad reducida.

La amoxicilina por vía oral se absorbe mejor que la ampicilina y la concentración que alcanza es más elevada. La amoxicilina combinada con ácido clavulánico es activa contra *H. influenzae* productor de lactamasa β. La ticarcilina es similar a la ampicilina pero es más activa contra los bacilos gramnegativos. Casi siempre se administra en la septicemia por gramnegativos combinada con algún aminoglucósido (p. ej., gentamicina). La piperacilina es más efectiva contra los bacilos aerobios gramnegativos, especialmente *Pseudomonas*. La piperacilina combinada con el inhibidor de la lactamasa β, tazobactam, ha incrementado la actividad contra algunos bacilos gramnegativos productores de lactamasa β. No obstante, la combinación de piperacilina con tazobactam no es más activa contra *P. aeruginosa* que la piperacilina sola.

Efectos secundarios

Las penicilinas tienen menos efectos tóxicos directos que los demás antimicrobianos. Los más graves son causados por hipersensibilidad.

Todas las penicilinas tienen sensibilización cruzada y reacciones cruzadas. Cualquier material (incluida la leche y los cosméticos) que contiene penicilina puede inducir sensibilización. Los antígenos causales son productos de degradación (p. ej., ácido peniciloico) unidos a las proteínas del hospedador. Las pruebas cutáneas con peniciloil-polilisina, con productos alcalinos de la hidrólisis y con penicilina no degradada permiten identificar a muchas personas hipersensibles. Entre las personas que tienen una reacción positiva a las pruebas cutáneas, la frecuencia de una reacción alérgica inmediata importante es elevada. Estas reacciones están relacionadas con anticuerpos IgE unidos a la célula. Los anticuerpos IgG contra las penicilinas son frecuentes y no se relacionan con otras reacciones alérgicas fuera de algunos casos de anemia hemolítica. El antecedente de una reacción antigua a la penicilina no es confiable, pero en estas personas el fármaco se debe administrar con cautela o se debe sustituir por otro medicamento.

Puede haber reacciones alérgicas en forma de choque anafiláctico típico, enfermedad del suero típica (urticaria, edema articular, edema angioneurótico, prurito, dificultad respiratoria durante los primeros 7 a 12 días después de administrar penicilina) y diversos eritemas cutáneos, fiebre, nefritis, eosinofilia, vasculitis, etc. En los niños, la frecuencia de hipersensibilidad a la penicilina es mínima, pero alcanza entre 1 y 5% en los adultos de Estados Unidos. Las reacciones anafilácticas agudas que ponen en peligro la vida son muy raras (0.5%). Algunas veces los corticoesteroides suprimen las manifestaciones alérgicas a las penicilinas.

Las dosis muy elevadas generan concentraciones irritantes para el sistema nervioso central. En los pacientes con insuficiencia renal, las dosis menores generan en ocasiones encefalopatía, delirio y convulsiones. Con estas dosis incluso puede haber intoxicación directa por cationes (K^+). La nafcilina algunas veces causa granulocitopenia. Las penicilinas por vía oral causan algunas veces diarrea. Las dosis elevadas de penicilina pueden ocasionar una tendencia hemorrágica. Algunas penicilinas ya son obsoletas por sus efectos adversos. La meticilina origina frecuentemente nefritis intersticial. La carbenicilina a menudo reduce la agregación plaquetaria, lo que provoca algunas veces hemorragia abundante.

CEFALOSPORINAS

Algunos hongos del género *Cephalosporium* producen sustancias antimicrobianas llamadas cefalosporinas. Éstas son compuestos lactámicos β con un núcleo de ácido 7-aminocefalosporánico (fig. 28-2) en lugar del ácido 6-aminopenicilánico de las penicilinas. Las cefalosporinas naturales poseen actividad antibacteriana reducida, pero la adición de varios grupos laterales R ha dado como resultado la proliferación de una gran cantidad de fármacos con diversas propiedades farmacológicas y espectros de actividades antimicrobianas. Las cefamicinas son similares a las cefalosporinas pero se derivan de los actinomicetos.

El mecanismo de acción de las cefalosporinas es análogo al de las penicilinas: 1) se unen a PBP específicas que sirven como receptores del fármaco en la bacteria; 2) inhiben la síntesis de la pared celular al bloquear la transpeptidación del peptidoglucano, y 3) activan enzimas autolíticas en la pared celular que generan lesiones que a su vez provocan la muerte bacteriana. La resistencia a las cefalosporinas se puede atribuir a 1) impregnación reducida de la bacteria con el fármaco; 2) ausencia de PBP para un determinado fármaco, y 3) degradación del fármaco a

Núcleo de ácido 7-aminocefalosporánico. Las estructuras siguientes pueden ser sustituidas en R_1 y R_2 para producir los derivados designados

Generación	Derivado	R_2
"Primera generación"	**Cefalexina**	$-H$
	Cefazolina	
	Cefradina	$-H$
"Segunda generación"	**Cefoxitina (cefamicina)**	
"Tercera generación"	**Cefoperazona**	
	Cefotaxima	
	Ceftriaxona	
	Ceftazidima	
"Cuarta generación"	**Cefepima**	

FIGURA 28-2 Estructuras de algunas cefalosporinas.

causa de lactamasas β, de las cuales existe un gran número. Ciertas cefalosporinas de segunda y tercera generaciones inducen la formación de lactamasas β especiales en las bacterias gramnegativas. Sin embargo, en general las cefalosporinas tienden a ser resistentes a las lactamasas β producidas por los estafilococos y las bacterias gramnegativas comunes que hidrolizan e inactivan a muchas penicilinas.

Para facilitar un punto de referencia, las cefalosporinas se han dividido en grupos principales o "generaciones", descritas más adelante (cuadro 28-4). Muchas cefalosporinas son excretadas principalmente a través del riñón y en el caso de insuficiencia renal se acumulan e inducen reacciones adversas.

Cefalosporinas de primera generación

Las cefalosporinas de primera generación son muy activas contra los cocos grampositivos (con excepción de los enterococos y los estafilococos resistentes a la meticilina [MRSA]) y moderadamente activas contra algunos bacilos gramnegativos, principalmente *E. coli*, *Proteus* y *Klebsiella*. Los cocos anaerobios a menudo son sensibles, al contrario de *Bacteroides fragilis.*

CUADRO 28-4 Principales grupos de cefalosporinas

Primera generación
Cefalotina
Cefapirina
Cefazolina
Cefalexina[a]
Cefradina[a]
Cefadroxilo
Segunda generación
Cefamandol
Cefuroxima
Cefonicida
Ceforanida
Cefaclor[a]
Cefoxitina
Cefotetán
Cefprozil[a]
Cefuroxima acetilo[a]
Cefmetazol
Tercera generación
Cefotaxima
Ceftizoxima
Ceftriaxona
Ceftazidima
Cefoperazona
Cefixima[a]
Cefpodoxima proxetilo[a]
Ceftibutén[a]
Cefdinir[a]
Cuarta generación
Cefepima

[a]Fármacos por vía oral.

La cefalexina, la cefradina y el cefadroxilo se absorben a partir del intestino en diversos grados y se utilizan para el tratamiento de infecciones urinarias y respiratorias. Otras cefalosporinas de primera generación se deben inyectar para obtener una concentración suficiente en la sangre y los tejidos. La cefazolina es una opción para la profilaxis quirúrgica puesto que alcanza la mayor concentración (90 a 120 μg/ml) con una dosis cada 8 h. La cefalotina y la cefapirina a la misma dosis alcanzan concentraciones menores. Ninguna de las cefalosporinas de primera generación penetra en el sistema nervioso central y no son los fármacos de elección en ninguna infección.

Cefalosporinas de segunda generación

Las cefalosporinas de segunda generación forman un grupo heterogéneo. Son activas contra los microorganismos cubiertos por fármacos de primera generación pero tienen una cobertura extendida contra bacilos gramnegativos, incluidos *Klebsiella* y *Proteus* pero no *P. aeruginosa*.

Algunas (pero no todas) cefalosporinas orales de segunda generación se utilizan para el tratamiento de la sinusitis y otitis por *H. influenzae,* incluidas las cepas productoras de lactamasa β.

La cefoxitina y el cefotetán son activos contra *B. fragilis* y por lo tanto se utilizan en infecciones anaerobias mixtas, como peritonitis o enfermedad inflamatoria pélvica. No obstante, está aumentando la resistencia a este fármaco en el grupo de *B. fragilis*.

Cefalosporinas de tercera generación

Las cefalosporinas de tercera generación tienen una actividad reducida contra los cocos grampositivos, con excepción de *S. pneumoniae*; los enterococos son resistentes por naturaleza a las cefalosporinas y a menudo generan superinfecciones durante su aplicación. La mayor parte de las cefalosporinas de tercera generación es activa contra los estafilococos, pero la ceftazidima es débilmente activa. Una de las principales desventajas de estos fármacos de tercera generación es su actividad reforzada contra los bacilos gramnegativos. Donde las cefalosporinas de segunda generación tienden a fracasar contra *P. aeruginosa*, la ceftazidima o la cefoperazona triunfan. Por consiguiente, los fármacos de tercera generación son de gran utilidad en el tratamiento de la bacteriemia hospitalaria por gramnegativos. En pacientes con inmunodepresión, estos fármacos a menudo se combinan con un aminoglucósido. La ceftazidima incluso salva la vida en la melioidosis grave (infección por *Burkholderia pseudomallei*).

Otra característica distintiva importante de las cefalosporinas de tercera generación (excepto la cefoperazona) es su potencial para llegar hasta el sistema nervioso central y aparecer en el líquido cefalorraquídeo con suficiente concentración como para tratar la meningitis por bacilos gramnegativos. La cefotaxima, ceftriaxona o ceftizoxima por vía intravenosa se utilizan para el tratamiento de la septicemia y meningitis por bacterias gramnegativas.

En Estados Unidos, recientemente se han aprobado o están a punto de aprobarse varios fármacos nuevos. El cefditorén es una cefalosporina oral de tercera generación con excelente actividad contra numerosas especies de grampositivos y gramnegativos. Este medicamento tiene acción bactericida y es estable contra muchas lactamasas β. El cefditorén es la cefalosporina oral más potente contra *S. pneumoniae*. Dos medicamentos son

activos contra MRSA. Éstos son la ceftarolina y el ceftobiprol. La ceftarolina tiene actividad reforzada contra grampositivos incluidos MRSA y neumococo resistente a la penicilina. El ceftobiprol posee un espectro de actividad similar al de otras cefalosporinas pero, además es activo contra MRSA, *E. faecalis* y *S. pneumoniae* resistente a la penicilina. Seguramente estos tres fármacos participarán activamente en el tratamiento de las infecciones cutáneas y de los tejidos blandos y en la neumonía extrahospitalaria.

Cefalosporinas de cuarta generación

La cefepima es la única cefalosporina de cuarta generación que se utiliza actualmente en Estados Unidos. Posee actividad reforzada contra especies de *Enterobacter* y *Citrobacter* que son resistentes a las cefalosporinas de tercera generación. La actividad de la cefepima es similar a la ceftazidima contra *P. aeruginosa.* Su actividad contra los estreptococos y estafilococos sensibles a la meticilina es mayor que la ceftazidima y similar a otros compuestos de tercera generación. La cefpiroma es una cefalosporina de cuarta generación que se vende fuera de Estados Unidos.

Efectos secundarios de las cefalosporinas

Las cefalosporinas son sensibilizadoras y despiertan una serie de reacciones de hipersensibilidad como anafilaxia, fiebre, eritemas cutáneos, nefritis, granulocitopenia y anemia hemolítica. La frecuencia de alergia cruzada entre cefalosporinas y penicilinas es de aproximadamente 5%. Los pacientes con alergia mínima a la penicilina por lo general toleran las cefalosporinas, pero los que tienen antecedente de anafilaxia no.

La inyección intravenosa de cefalosporina provoca en ocasiones tromboflebitis. Asimismo, las cefalosporinas con un grupo metiltiotetrazol (p. ej., cefamandol, cefmetazol, cefotetán, cefoperazona) a menudo causan hipoprotrombinemia. Esta complicación se previene administrando por vía oral vitamina K (10 mg) dos veces por semana. Estos mismos fármacos causan algunas veces reacciones intensas al disulfiram, por lo que los pacientes deben evitar el consumo de alcohol.

Puesto que muchas cefalosporinas de segunda, tercera y cuarta generaciones poseen una actividad reducida contra los microorganismos grampositivos, en especial enterococos, algunas veces aparecen superinfecciones con estos microorganismos y con hongos.

OTROS LACTÁMICOS β

Monobactámicos

Los monobactámicos tienen un anillo lactámico β monocíclico y son resistentes a las lactamasas β. Son activos contra los bacilos gramnegativos pero no contra las bacterias grampositivas ni los anaerobios. El primero de estos fármacos fue el aztreonam, cuya actividad es similar a la de los aminoglucósidos y se administra por vía intravenosa o intramuscular cada 8 o 12 h. Los pacientes con alergia a la penicilina mediada por IgE lo toleran sin demostrar reacciones y (fuera de algunos eritemas cutáneos y alteraciones menores de la aminotransferasa) no se han publicado efectos adversos importantes. Algunas veces aparecen supeinfecciones por estafilococos o enterococos.

Carbapenémicos

Estos fármacos son similares desde el punto de vista estructural a los antibióticos lactámicos β. El imipenem, el primer fármaco de este tipo, posee buena actividad contra numerosos bacilos gramnegativos, microorganismos grampositivos y anaerobios. Es resistente a las lactamasas β pero es inactivado por las dihidropeptidasas en los túbulos renales. Por lo tanto, se administra con un inhibidor de la peptidasa, la cilastatina.

El imipenem penetra muy bien en los tejidos y líquidos del cuerpo, incluido el líquido cefalorraquídeo. Este medicamento se administra por vía intravenosa cada 6 a 8 h y la dosis se reduce en caso de insuficiencia renal. El imipenem está indicado en las infecciones causadas por microorganismos que son resistentes a otros fármacos. Las especies de *Pseudomonas* desarrollan resistencia con rapidez y por lo tanto es necesario administrar al mismo tiempo un aminoglucósido; sin embargo, esta medida no retrasa la aparición de resistencia. Esta combinación es efectiva en el tratamiento de los pacientes neutropénicos febriles.

Algunos efectos adversos del imipenem son vómito, diarrea, eritemas cutáneos y reacciones en los sitios de infusión. La concentración excesiva en los pacientes con insuficiencia renal provoca convulsiones. Los pacientes que son alérgicos a las penicilinas a menudo son también alérgicos al imipenem.

El meropenem es similar al imipenem en cuanto a sus características farmacológicas y espectro antimicrobiano. Sin embargo, no es inactivado por las dipeptidasas y es menos probable que provoque convulsiones que el imipenem.

El ertapenem tiene una vida media prolongada que permite administrarlo una vez al día. Es útil para el tratamiento de las infecciones complicadas que no son causadas por microorganismos patógenos hospitalarios. Su actividad contra *Enterococcus* spp., *P. aeruginosa* y otros bacilos gramnegativos que no fermentan glucosa es reducida.

El doripenem es el carbapenémico que ha sido aprobado más recientemente en Estados Unidos. El grupo sulfamoilamimoetilpirrolidiniltio en su cadena lateral en la posición 2 fomenta su actividad contra los bacilos gramnegativos no fermentadores de glucosa. Se ha publicado que este fármaco tiene gran afinidad por las PBP específicas de especie. Por ejemplo, el doripenem posee afinidad por la PBP 3 en *P. aeruginosa*. Se ha publicado que el doripenem es más activo contra *P. aeruginosa* que el imipenem, pero es igual de activo que el meropenem. Ninguno de los carbapenémicos posee actividad contra *Stenotrophomonas maltophilia*.

TETRACICLINAS

Las tetraciclinas son un grupo de medicamentos que difieren en cuanto a sus características físicas y farmacológicas pero poseen casi las mismas propiedades antimicrobianas y ofrecen una resistencia cruzada completa. Las tetraciclinas se absorben del aparato digestivo y se distribuyen en los tejidos pero penetran muy poco en el líquido cefalorraquídeo. Algunas se administran por vía intramuscular o intravenosa. Se excretan en las heces fecales, la bilis y la orina en diversas magnitudes. Con una dosis de clorhidrato de tetraciclina de 2 g/día por vía oral, su concentra-

ción sanguínea alcanza 8 μg/ml. La minociclina y la doxiciclina se excretan con mayor lentitud y por lo tanto se administran a intervalos más prolongados.

Las tetraciclinas poseen la estructura básica que se muestra a continuación. Tienen los radicales siguientes en diferentes formas:

	R	R_1	R_2	Depuración renal (ml/min)
Tetraciclina	$-H$	$-CH_3$	$-H$	65
Doxiciclina	$-H$	$-CH_3$	$-OH$	16
Minociclina	$-N(CH_3)_2$	$-H$	$-H$	<10

Actividad antimicrobiana

Las tetraciclinas son concentradas por las bacterias sensibles e inhiben la síntesis de proteínas al inhibir el enlace de la aminoacil-tRNA con la subunidad 30S de los ribosomas bacterianos. Las bacterias resistentes no concentran el fármaco. Esta resistencia es regulada por plásmidos transmisibles.

Las tetraciclinas constituyen los principales bacteriostáticos. Inhiben la proliferación de las bacterias grampositivas y gramnegativas sensibles (que son inhibidas por 0.1 a 10 μg/ml) y son los fármacos de elección en las infecciones causadas por rickettsias, clamidias y *Mycoplasma pneumoniae*. Las tetraciclinas se utilizan en el cólera para acortar la excreción de vibrios. El clorhidrato de tetraciclina o la doxiciclina por vía oral durante siete días son efectivos contra la clamidiosis genital. Algunas veces se utilizan tetraciclinas combinadas con estreptomicina para el tratamiento de las infecciones por *Brucella, Yersinia* y *Francisella*. La minociclina suele ser activa contra *Nocardia* y permite erradicar el estado de portador de meningococo. En el acné se administran dosis reducidas de tetraciclinas durante varios meses para suprimir las bacterias cutáneas y sus lipasas, que fomentan los cambios inflamatorios.

Las tetraciclinas no inhiben a los hongos. Suprimen temporalmente una parte de la flora intestinal normal y pueden ocurrir superinfecciones, en especial por *Pseudomonas,* proteus, estafilococos y levaduras resistentes a las tetraciclinas.

Efectos secundarios

Las tetraciclinas generan diversos grados de molestias digestivas (náusea, vómito, diarrea), eritemas cutáneos, lesiones mucosas y fiebre en muchos pacientes, especialmente cuando la administración es prolongada y la dosis es elevada. Con frecuencia se observa sustitución de la flora bacteriana (véase antes). El crecimiento excesivo de levaduras en las mucosas anal o vaginal durante la administración de tetraciclinas, provoca inflamación y prurito. El crecimiento excesivo de otros microorganismos en el intestino genera enterocolitis.

Las tetraciclinas se depositan en las estructuras óseas y los dientes, sobre todo en el feto y durante los primeros seis años de vida. Los hijos de las mujeres que consumen tetraciclinas durante periodos prolongados durante el embarazo manifiestan cambios de la coloración y fluorescencia dental. En algunos, incluso se lesiona el hígado. La minociclina causa en ocasiones alteraciones vestibulares pronunciadas.

Examen bacteriológico

Los microorganismos que son sensibles a las tetraciclinas también son sensibles a la doxiciclina y a la minociclina. No obstante, la resistencia a las tetraciclinas no se puede utilizar para pronosticar resistencia a otros medicamentos.

GLICILCICLINAS

Las glicilciclinas son análogos sintéticos de las tetraciclinas. En la actualidad sólo se puede utilizar un fármaco, la tigeciclina. La tigeciclina es un derivado 9-*tert*-butil-glicilamido de la minociclina. La tigeciclina comparte el mismo sitio de unión en el ribosoma que las tetraciclinas. Se adhiere con más avidez al ribosoma y este enlace firme probablemente es el encargado de la actividad reforzada contra los microorganismos resistentes a las tetraciclinas. La tigeciclina es activa contra un amplio espectro de microorganismos patógenos tanto grampositivos como gramnegativos. Frente a las tetraciclinas, es más activa contra *S. aureus* y *S. epidermidis* resistentes a la meticilina, *S. pneumoniae* sensible y resistente al fármaco y enterococos. En cuanto a los aerobios gramnegativos, además del espectro de otras tetraciclinas, la tigeciclina posee actividad reforzada contra diversas enterobacterias, incluidas especies de *Salmonella, Shigella* y *Acinetobacter.* No posee suficiente actividad contra *P. aeruginosa, S. maltophilia* o *Burkholderia cepacia.* Asimismo, la tigeciclina es activa contra numerosas bacterias anaerobias, incluida *B. fragilis*.

En la actualidad la tigeciclina sólo se vende en presentación parenteral por su biodisponibilidad reducida. Este fármaco se distribuye rápida y extensamente en los tejidos. Su enlace a proteínas varía de 73 a 79%. La tigeciclina no se metaboliza hasta formar metabolitos con actividad farmacológica. Su vida media es prolongada, de aproximadamente 40 horas. Se elimina principalmente a través de las vías biliares y las heces fecales. Otra vía secundaria de eliminación es la depuración renal. En la actualidad, la tigeciclina ha sido aprobada en Estados Unidos para el tratamiento de las infecciones cutáneas y de los tejidos blandos no complicadas y para infecciones intraabdominales complicadas.

CLORANFENICOL

El cloranfenicol es una sustancia producida originalmente a partir de cultivos de *Streptomyces venezuelae* pero que en la actualidad se elabora en forma sintética.

El cloranfenicol cristalino es un compuesto estable que se absorbe rápidamente del aparato digestivo y se distribuye de manera extensa en los tejidos y líquidos del cuerpo, incluidos el sistema nervioso central y el líquido cefalorraquídeo; penetra bien en las células. La mayor parte del fármaco se inactiva en el

Cloranfenicol

hígado al conjugarse con ácido glucurónico o al ser reducido para formar arilaminas inactivas. Se excreta principalmente en la orina, 90% en su forma inactiva. El cloranfenicol suele administrarse por vía oral, pero el succinato se puede inyectar por vía intravenosa a una dosis similar.

El cloranfenicol es un inhibidor potente de la síntesis de proteínas en los microoganismos. Bloquea la fijación de los aminoácidos a la cadena peptídica naciente en la unidad 50S de los ribosomas al interferir con la acción de la peptidiltransferasa. El cloranfenicol es básicamente bacteriostático, y su espectro, dosificación y concentración sanguínea son similares a los de las tetraciclinas. Se ha utilizado cloranfenicol para tratar diversos tipos de infecciones (p. ej., por salmonela, meningococo, *H. influenzae*) pero ya no constituye el fármaco de elección para ninguna infección.

La resistencia al cloranfenicol es secundaria a la destrucción del fármaco por una enzima (aciltransferasa de cloranfenicol) regulada por plásmidos.

El cloranfenicol rara vez provoca molestias digestivas. Sin embargo, la administración de más de 3 g/día en forma regular induce alteraciones en la maduración de los eritrocitos, elevación del hierro sérico y anemia. Estos cambios son reversibles al suspender el fármaco. En raras ocasiones algunas personas exhiben idiosincrasia aparente al cloranfenicol y manifiestan anemia aplásica pronunciada o mortal que difiere del efecto reversible sujeto a la dosis descrito antes. Es por estas razones que el uso de cloranfenicol suele limitarse a las infecciones en las que es claramente el fármaco más efectivo según los resultados de laboratorio o la experiencia del médico.

En los lactantes prematuros y recién nacidos, el cloranfenicol induce colapso ("síndrome gris") puesto que aún no se ha desarrollado el mecanismo normal de desintoxicación (conjugación con glucurónido en el hígado).

ERITROMICINAS

La eritromicina se obtiene a partir de *Streptomyces erythreus* y su fórmula química es $C_{37}H_{67}NO_{13}$. Los fármacos afines a la eritromicina son claritromicina, azitromicina y otros. Las eritromicinas se adhieren a un receptor (un rRNA 23S) en la subunidad 50S del ribosoma bacteriano. Inhiben la síntesis de proteínas al interferir con las reacciones de translocación y la formación de complejos de iniciación. La resistencia a las eritromicinas es secundaria a una alteración (metilación) del receptor de rRNA. Este mecanismo es regulado por un plásmido transmisible. La actividad de las eritromicinas aumenta considerablemente en un pH alcalino.

Las eritromicinas a una concentración de 0.1 a 2 μg/ml son activas contra las bacterias grampositivas, incluidos neumococos, estreptococos y corinebacterias. También son sensibles *M. pneumoniae, Chlamydia trachomatis, L. pneumophila* y *Campylobacter jejuni*. En las poblaciones de microorganismos sensibles aparecen variedades resistentes durante el tratamiento, principalmente en las infecciones estafilocócicas.

Las eritromicinas son los fármacos de elección en las infecciones causadas por los microorganismos antes mencionados y sustituyen a las penicilinas en las personas que son hipersensibles. El estearato, succinato o estolato de eritromicina por vía oral administrado cada 6 h alcanza una concentración sérica de 0.5 a 2 μg/ml. Las demás presentaciones se administran por vía intravenosa.

Algunos de sus efectos indeseables son fiebre, molestias digestivas leves y hepatitis colestásica como reacción de hipersensibilidad, en especial al estolato. Los efectos hepatotóxicos son más pronunciados durante el embarazo. La eritromicina tiende a incrementar la concentración de los anticoagulantes, la ciclosporina y otros fármacos que se administran simultáneamente al reducir las enzimas microsomales.

La diritromicina es un macrólido con un espectro antimicrobiano similar al de la eritromicina. La vida media sérica de la diritromicina es más prolongada, lo que permite administrarla una sola vez al día.

La claritromicina y azitromicina son azálidos con similitud química a la eritromicina. Al igual que la eritromicina, tanto la claritromicina como la azitromicina son activos contra estafilococos y estreptococos. La claritromicina posee actividad reforzada contra *L. pneumophila, Helicobacter pylori, Moraxella catarrhalis, C. trachomatis* y *Borrelia burgdorferi*. La azitromicina posee actividad reforzada contra *C. jejuni, H. influenzae, M. pneumoniae, M. catarrhalis, N. gonorrhoeae* y *B. burgdorferi*. Ambos fármacos son activos contra el complejo *Mycobacterium avium* y además inhiben a la mayor parte de las cepas de *Mycobacterium chelonei* y *Mycobacterium fortuitum*. Las bacterias que son resistentes a la eritromicina también son resistentes a la claritromicina y azitromicina. Las modificaciones químicas impiden el metabolismo de la claritromicina y azitromicina que las inactiva y los fármacos se administran cada 12 h (claritromicina) o una sola vez al día (azitromicina). Ambos medicamentos tienen una frecuencia mucho menor de efectos secundarios digestivos que la eritromicina.

Los cetólidos son derivados semisintéticos de la eritromicina. Son más activos que los macrólidos, especialmente contra algunas bacterias resistentes a los macrólidos, y su farmacocinéti-

Eritromicina (R = CH_3)

ca es mejor. El fármaco que ha sido aprobado en Estados Unidos es la telitromicina. Se administra por vía oral para el tratamiento de las infecciones agudas de las vías respiratorias superiores e inferiores. Su mecanismo de acción y perfil de efectos secundarios son similares a los de los macrólidos.

CLINDAMICINA Y LINCOMICINA

La lincomicina (derivada de *Streptomyces lincolnensis*) y la clindamicina (derivado en el que se sustituye un átomo de cloro) son similares a la eritromicina en cuanto a su modo de acción, espectro antibacteriano y sitio receptor en los ribosomas, pero difieren desde el punto de vista químico. La clindamicina es activa contra bacteroides y otros anaerobios.

Estos fármacos son estables en ácido y se administran por vía oral o intravenosa. Se distribuyen extensamente en los tejidos, con excepción del sistema nervioso central. Se excretan principalmente a través del hígado, bilis y orina.

Quizá la indicación más importante de la clindamicina intravenosa es el tratamiento de las infecciones graves por anaerobios, incluida la que causa *B. fragilis*. Existen publicaciones sobre el tratamiento satisfactorio de ciertas infecciones estafilocócicas de hueso con lincomicina. La clindamicina se ha utilizado de manera extensa recientemente en el tratamiento de infecciones de la piel y la estructura cutánea por MRSA extrahospitalario. La lincomicina no se debe utilizar en caso de meningitis. La clindamicina es eficaz en la colitis que acompaña a la administración de antibióticos y es causada por *C. difficile*; sin embargo, la mayor parte de los antimicrobianos se ha acompañado de colitis por *C. difficile*.

GLUCOPÉPTIDOS

Vancomicina

La vancomicina (PM 1 450) es producida por *Streptomyces orientalis*. Se absorbe poco en el intestino.

La vancomicina es bactericida para los estafilococos, algunos clostridios y algunos bacilos. Este fármaco inhibe las primeras fases de la síntesis de peptidoglucano en la pared celular. Las cepas resistentes no surgen con rapidez. La vancomicina se administra por vía intravenosa en el caso de infecciones estafilocócicas generalizadas graves, incluidas la endocarditis, especialmente resistente a la nafcilina. Para la sepsis o endocarditis enterocócicas, la vancomicina es efectiva cuando se combina con algún aminoglucósido. La vancomicina por vía oral está indicada en la colitis seudomembranosa por antibióticos (véase clindamicina y lincomicina).

El surgimiento de resistencia a la vancomicina entre los enterococos ha repercutido en el tratamiento de las infecciones enterocócicas multirresistentes. Véase la sección sobre Consecuencias clínicas de la farmacorresistencia al principio de este capítulo y el capítulo 15.

En varios países ya se aisló *S. aureus* de susceptibilidad intermedia a la vancomicina *in vitro*, incluido Estados Unidos. Estos pacientes tienden a padecer enfermedades complejas que incluyen tratamiento prolongado con vancomicina. En ciertos casos, las infecciones aparentemente no respondieron al tratamiento con vancomicina.

Un fenómeno que ha causado preocupación internacional es la resistencia pronunciada de *S. aureus* a la vancomicina. El mecanismo es el mismo o similar a la resistencia a la vancomicina mediada por transposones en los enterococos (adquisición de genes *vanA* [cap. 15]). Estas cepas aisladas se han obtenido a partir de diversos pacientes y quizá se observen más en el futuro.

Sus efectos secundarios indeseables son tromboflebitis, eritemas cutáneos, sordera neurosensorial, leucopenia y quizá lesión renal cuando se combina con un aminoglucósido.

Teicoplanina

La estructura de la teicoplanina es similar a la de la vancomicina. Es activa contra los estafilococos (incluidas las cepas resistentes a la meticilina), estreptococos, enterococos y muchas otras bacterias grampositivas. Los enterococos con resistencia VanA a la vancomicina también son resistentes a la teicoplanina, pero los enterococos con resistencia VanB a la vancomicina son sensibles a la teicoplanina. La vida media de este medicamento es prolongada y se administra una sola vez al día. Algunos de sus efectos adversos son irritación circunscrita en el sitio de la inyección, hipersensibilidad y la posibilidad de efectos ototóxicos y nefrotóxicos. La teicoplanina se vende en Europa pero no en Estados Unidos.

DAPTOMICINA

La daptomicina es un lipopéptido cíclico natural producido por *Streptomyces roseoporus*. Desde el punto de vista estructural, tiene un anillo con 10 aminoácidos, un ácido decanoico de 10 carbonos unido a un L-triptófano terminal. Es bactericida al provocar despolarización de la membrana bacteriana de manera dependiente del calcio. Existe una presentación parenteral que se administra una sola vez al día. Se une a las proteínas y es excretada a través del riñón como fármaco precursor. En los pacientes con una depuración de creatinina <30 ml/min es necesario ajustar la dosis.

Uno de los principales efectos adversos de la daptomicina es la miopatía reversible. Se recomienda vigilar cada semana la creatina fosfocinasa y el fármaco se suspende cuando la concentración es cinco veces mayor de lo normal. En la actualidad la daptomicina está aprobada en Estados Unidos para el tratamiento de las infecciones cutáneas y de los tejidos blandos causadas por cocos grampositivos tanto sensibles como resistentes y para la bacteriemia por *S. aureus.* Se observa sinergia cuando se combina daptomicina con gentamicina.

ESTREPTOGRAMINAS

La quinupristina-dalfopristina es una estreptogramina inyectable que consta de una mezcla 30:70 de dos derivados semisintéticos de la pristinamicina (estreptogramina del grupo B) y dalfopristina (estreptogramina del grupo A). Ambos componentes actúan de manera sinérgica para inhibir un amplio espectro de bacterias grampositivas incluido el estafilococo resistente a la meticilina, enterococo resistente a la vancomicina y neumococo resistente a la penicilina. La quinupristina-dalfopristina es activa contra algunos anaerobios y bacterias

gramnegativas (p. ej., *N. gonorrhoeae, H. influenzae*) pero no contra el género Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa* o *Acinetobacter*. Los enterococos que son resistentes a la vancomicina también son resistentes a la quinupristina-dalfopristina, pero son raros.

OXAZOLIDINONAS

Las oxazolidinonas forman parte de una clase nueva de antimicrobianos sintéticos descubiertos en 1987. La linezolida es el único fármaco disponible. Su espectro antimicrobiano es similar al de los glucopéptidos. El mecanismo de acción de la linezolida empieza durante las primeras etapas en la síntesis de proteínas, interfiere con la traslación al inhibir la formación de *N*-formilmetionil-tRNA, que es el complejo de iniciación en el ribosoma 30S. La linezolida es 100% biodisponible y mejor que la vancomicina en el sentido de que posee una excelente penetración en las secreciones respiratorias. Además se difunde muy bien en el hueso, grasa y orina. La linezolida se usa principalmente en el tratamiento de la neumonía, bacteriemia, infecciones de la piel y tejidos blandos por estafilococos y enterococos resistentes a los glucopéptidos. Su principal efecto adverso es una trombocitopenia reversible.

BACITRACINA

La bacitracina es un polipéptido que se obtiene de una cepa (cepa Tracy) de *Bacillus subtilis*. Es estable y se absorbe poco del aparato digestivo. Su única aplicación es de tipo tópico en la piel, heridas o mucosas.

La bacitracina es básicamente bactericida para las bacterias grampositivas, incluidos los estafilococos resistentes a la penicilina. Para su aplicación tópica, se utilizan concentraciones de 500 a 2 000 U/ml de solución o gramo de pomada. Cuando se combina con polimixina B o neomicina, la bacitracina es útil para suprimir la flora bacteriana mixta en las lesiones superficiales.

La bacitracina es nefrotóxica y causa proteinuria, hematuria y retención de nitrógeno. Es por esta razón que no se utiliza por vía general. Se dice que la bacitracina no induce hipersensibilidad con facilidad.

POLIMIXINAS

Las polimixinas son polipéptidos catiónicos básicos que son nefrotóxicos y neurotóxicos. También son bactericidas para muchos bacilos aerobios gramnegativos (incluidas *Pseudomonas* y *Serratia*) al adherirse a las membranas celulares con abundante fosfatidiletanolamina y destruir dos funciones de la membrana: transporte activo y barrera de permeabilidad. Hasta hace poco tiempo, por sus efectos adversos y distribución deficiente en los tejidos, las polimixinas se utilizaban principalmente en forma tópica y rara vez en infecciones generalizadas. La polimixina E (colistina) tiene una presentación parenteral en forma de colistimetato de sodio y ha despertado gran interés además de que se ha utilizado más como opción para el tratamiento de las infecciones por *Acinetobacter baumannii* y *P. aeruginosa* multirresistentes y como tratamiento de último recurso en las infecciones por *Klebsiella* resistente a la carbapenemasa. La colistina es bactericida contra estos microorganismos gramnegativos. Si se utiliza con sensatez, sus efectos adversos son menores que los que se han descrito.

AMINOGLUCÓSIDOS

Los aminoglucósidos forman un grupo de fármacos que comparten una serie de características químicas, antimicrobianas, farmacológicas y tóxicas. En la actualidad, el grupo comprende a la estreptomicina neomicina, kanamicina, amikacina, gentamicina, tobramicina, sisomicina, netilmicina y otras. Todas ellas inhiben la síntesis proteínica de las bacterias al adherirse a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano inhibiendo su función. La resistencia depende de: 1) una deficiencia en el receptor ribosomal (mutante cromosómico), 2) la destrucción enzimática del fármaco (resistencia transmisible gobernada por plásmidos de importancia clínica) o 3) falta de permeabilidad a la molécula del fármaco y ausencia de transporte activo hacia la célula. Este último fenómeno puede ser cromosómico (p. ej., los estreptococos son relativamente impermeables a los aminoglucósidos) o bien gobernado por plásmidos (p. ej., en las bacterias intestinales gramnegativas). Las bacterias anaerobias a menudo son resistentes a los aminoglucósidos puesto que el transporte a través de la membrana celular es un proceso que necesita energía y depende del oxígeno.

Los aminoglucósidos son más activos al pH alcalino que al pH ácido. Son potencialmente ototóxicos y nefrotóxicos, si bien en diversos grados. Se acumulan en la insuficiencia renal, por lo que es necesario ajustar la dosis cuando existe retención de nitrógeno. Los aminoglucósidos se utilizan principalmente contra bacterias intestinales gramnegativas o cuando existe sospecha de septicemia. En el tratamiento de la bacteriemia o endocarditis por *Streptococcus faecalis* o alguna bacteria gramnegativa, el aminoglucósido se combina con una penicilina que facilite la penetración del aminoglucósido. Los aminoglucósidos se seleccionan según los patrones más recientes de sensibilidad en determinada región u hospital hasta que se consiguen los resultados de las pruebas de sensibilidad para una cepa específica. La utilidad clínica de los aminoglucósidos ha disminuido con el advenimiento de las cefalosporinas y quinolonas, pero se siguen utilizando en combinaciones (p. ej., con cefalosporinas para las bacteriemias por gramnegativos multirresistentes). Los aminoglucósidos con carga positiva son inhibidos en los hemocultivos por el polianetolsulfonato de sodio y otros detergentes polianiónicos. Ciertos aminoglucósidos (en especial, la estreptomicina) son de utilidad como antimicobacterianos.

Neomicina y kanamicina

La kanamicina está vinculada a la neomicina y tanto su actividad como su resistencia cruzada completa son similares. La paromomicina también está relacionada en forma estrecha y se utiliza en la amebosis. Estos medicamentos son estables y se absorben poco del aparato digestivo y otras superficies. Ninguno se utiliza por vía sistémica por sus efectos ototóxicos y

neurotóxicos. Antes de una cirugía de intestino grueso se administran dosis tanto de neomicina como de kanamicina por vía oral para reducir la flora intestinal, a menudo combinadas con eritromicina. Por lo demás, estos medicamentos se utilizan exclusivamente para aplicación tópica en superficies infectadas (piel y heridas).

Amikacina

La amikacina es un derivado semisintético de la kanamicina. Es relativamente resistente a muchas de las enzimas que inactivan a la gentamicina y la tobramicina y, por lo tanto, se puede utilizar contra algunos microorganismos que son resistentes a estos fármacos. No obstante, la resistencia bacteriana por impermeabilidad a la amikacina está aumentando en forma gradual. Muchas bacterias intestinales gramnegativas son inhibidas por la amikacina a la concentración que se obtiene después de su inyección. En caso de una infección del sistema nervioso central es necesario administrarla por inyección intratecal o intraventricular.

Al igual que los aminoglucósidos, la amikacina es nefrotóxica y ototóxica (en especial para la porción auditiva del octavo par craneal). Su concentración se debe vigilar en los pacientes con insuficiencia renal.

Gentamicina

A una concentración de 0.5 a 5 μg/ml, la gentamicina es bactericida para muchas bacterias grampositivas y gramnegativas, incluidas numerosas cepas de *Proteus, Serratia* y *Pseudomonas*. La gentamicina no es efectiva contra los estreptococos ni *Bacteroides*.

La gentamicina se ha utilizado en infecciones graves por bacterias gramnegativas resistentes a otros fármacos. En ocasiones las penicilinas precipitan a la gentamicina *in vitro* (por lo que no se debe mezclar) pero *in vivo* facilitan la penetración del aminoglucósido en los estreptococos y bacilos gramnegativos, con la sinergia bactericida resultante que es útil en la septicemia y la endocarditis.

La gentamicina es tóxica, especialmente en presencia de una función renal deficiente. El sulfato de gentamicina al 0.1% se ha utilizado en forma tópica en cremas o soluciones para quemaduras o lesiones cutáneas infectadas. Estas cremas tienden a seleccionar bacterias resistentes a la gentamicina y los pacientes que las reciben deben permanecer aislados.

Tobramicina

Este aminoglucósido es muy similar a la gentamicina y existe cierta resistencia cruzada entre ambas. Conviene realizar pruebas de sensibilidad separadas. La tobramicina tiene una actividad ligeramente mayor contra *P. aeruginosa* que la gentamicina.

Las propiedades farmacológicas de la tobramicina son casi idénticas a las de la gentamicina. La mayor parte del fármaco se excreta por filtración glomerular. En caso de insuficiencia renal, la dosis se debe reducir y vigilar su concentración sanguínea.

Al igual que otros aminoglucósidos, la tobramicina es ototóxica pero quizá menos nefrotóxica que la gentamicina. No se debe administrar al mismo tiempo que otros medicamentos con efectos adversos similares o con diuréticos, los cuales tienden a elevar la concentración del aminoglucósido en los tejidos.

Netilmicina

La netilmicina comparte muchas de las características de la gentamicina y tobramicina, pero no es inactivada por algunas bacterias que son resistentes a otros fármacos.

La indicación principal para utilizar netilmicina son quizá las infecciones yatrógenas en los pacientes inmunodeprimidos y muy graves con un riesgo elevado de padecer sepsis por bacterias gramnegativas dentro de un hospital.

La netilmicina es un poco menos ototóxica y nefrotóxica que otros aminoglucósidos.

Estreptomicina

La estreptomicina fue el primer aminoglucósido, se descubrió en la década de 1940 como producto de *Streptomyces griseus*. Se estudió con gran detalle y se convirtió en el prototipo de esta clase de fármacos. Es por esta razón que sus propiedades se enumeran a continuación, pero la resistencia extendida que ha surgido entre los microorganismos ha reducido considerablemente su utilidad clínica.

Después de su inyección intramuscular, la estreptomicina se absorbe rápidamente y se distribuye en los tejidos con excepción del sistema nervioso central. Sólo 5% de la concentración extracelular de estreptomicina alcanza el interior de la célula. La estreptomicina absorbida es excretada por filtración glomerular hacia la orina. Después de su administración por vía oral, se absorbe poco del intestino; la mayor parte se excreta en las heces fecales.

La estreptomicina es bactericida para los enterococos (p. ej., en la endocarditis) cuando se combina con una penicilina. En la tularemia y la peste se puede administrar con una tetraciclina. En la tuberculosis se combina con otros antituberculosos (isoniazida, rifampicina). No se debe utilizar en forma aislada para el tratamiento de ninguna infección.

La eficacia terapéutica de la estreptomicina está limitada por el surgimiento inmediato de mutantes resistentes. Todas las cepas microbianas producen mutantes cromosómicos resistentes a la estreptomicina con una frecuencia relativamente elevada. Los mutantes cromosómicos tienen una modificación en el receptor P 12 en la subunidad 30S del ribosoma. La resistencia gobernada por plásmidos provoca la destrucción enzimática del fármaco. Los enterococos que son resistentes a una concentración elevada de estreptomicina (2 000 μg/ml) o gentamicina (500 μg/ml) son resistentes a las acciones sinérgicas de estos fármacos con la penicilina.

La hipersensibilidad a la estreptomicina se manifiesta por fiebre, eritemas cutáneos y otras manifestaciones alérgicas. Este fenómeno es más frecuente cuando el contacto con el fármaco ha sido prolongado, en los pacientes que reciben un régimen largo de tratamiento (p. ej., por tuberculosis) o en el personal que prepara y maneja el fármaco. (Los que preparan soluciones deben usar guantes.)

La estreptomicina es muy tóxica para la porción vestibular del octavo par craneal y causa acúfenos, vértigo y ataxia, que a menudo son irreversibles. Es moderadamente nefrotóxica.

Espectinomicina

La espectinomicina es un aminociclitol (similar a los aminoglucósidos) para administración intramuscular. Se aplica una sola vez como tratamiento de la gonorrea por gonococos productores de lactamasa β o en personas con alergia a la penicilina. Probablemente entre 5 y 10% de los gonococos es resistente. Por lo general se presenta dolor en el sitio de la inyección y puede haber náusea y fiebre.

QUINOLONAS

Las quinolonas son análogos sintéticos del ácido nalidíxico. En el cuadro 28-5 se presentan las quinolonas que existen en la actualidad. Su modo de acción comprende la inhibición de la síntesis bacteriana de DNA al bloquear a la DNA girasa.

Las primeras quinolonas (ácido nalidíxico, ácido oxolínico y cinoxacina) no alcanzaban una concentración antibacteriana generalizada suficiente después de su consumo por vía oral y, por lo tanto, eran útiles exclusivamente como antisépticos urinarios (véase más adelante). Los derivados fluorados (p. ej., ciprofloxacina, norfloxacina y otras; véase la figura 28-3 para estudiar la estructura de algunas de ellas) poseen mayor actividad antibacteriana y pocos efectos adversos, además de que alcanzan una concentración suficiente para fines clínicos en sangre y tejidos.

Actividad antimicrobiana

Las fluoroquinolonas inhiben muchos tipos de bacterias, si bien el espectro de actividad varía entre fármacos (cuadros 28-5 y 28-6). Estos medicamentos son muy activos contra Enterobacteriaceae, incluidas aquellas que son resistentes a las cefalosporinas de tercera generación, especies de *Haemophilus*, neisserias, clamidias y otras. Se necesita una cantidad mayor para inhibir a *Pseudomonas aeruginosa* y legionela. La actividad de las quinolonas contra los microorganismos patógenos grampositivos varía. Algunas son activas contra *S. pneumoniae* multirresistente (véase el cuadro 28-6). Otras son activas contra los estafilococos y *E. faecalis* resistentes a la meticilina. Por lo general los enterococos que son resistentes a la vancomicina también lo son a las quinolonas. Las fluoroquinolonas más modernas han reforzado su actividad contra las bacterias anaerobias, lo que permite utilizarlas en forma de monoterapia en el tratamiento de las infecciones mixtas por aerobios y anaerobios.

Las fluoroquinolonas también poseen actividad contra *M. tuberculosis, M. fortuitum, M. kansasii* y en ocasiones *M. chelonei*.

Durante el tratamiento con fluoroquinolonas, se ha observado el surgimiento de pseudomonas, estafilococos y otros microorganismos patógenos que son resistentes. La resistencia cromosómica es consecuencia de una mutación y comprende uno de dos mecanismos: ya sea una modificación en la subunidad A de la enzima destinataria, DNA girasa; o bien un cambio en la permeabilidad de la membrana externa que provoca una menor acumulación del fármaco en la bacteria.

Absorción y excreción

Después de su administración por vía oral, las fluoroquinolonas representativas se absorben bien y se distribuyen en los líquidos corporales y tejidos en distintas magnitudes, pero no abundan en el sistema nervioso central. Su vida media es variable (3 a 8 h), pero ésta se prolonga en la insuficiencia renal, según el fármaco utilizado.

Las fluoroquinolonas se excretan principalmente a través de la orina por el riñón, pero parte de la dosis se metaboliza en el hígado.

Aplicaciones clínicas

Las fluoroquinolonas por lo general son efectivas en las infecciones urinarias y muchas de ellas son de utilidad en la prostatitis. Ciertas fluoroquinolonas (p. ej., ofloxacina) son eficaces en el tratamiento de las enfermedades de transmisión sexual causadas por *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis*, pero carecen de efectos sobre *T. pallidum*. Estos medicamentos también permiten contener las infecciones de las vías respiratorias inferiores por *H. influenzae* (si bien no son los fármacos de elección) y la enteritis por salmonela, shigela o campilobacter. Las fluoro-

O COOH H_3C N N C_2H_5 **Ácido nalidíxico**

O F COOH HN N N C_2H_5 **Norfloxacina**

O F COOH HN N N **Ciprofloxacina**

O F COOH H_3CN N N O CH_3 **Ofloxacina/levofloxacina**

O F CO_2H H_3C N HN N OCH_3 **Gatifloxacina**

O F CO_2H H N HN S S H OCH_3 N **Moxifloxacina**

FIGURA 28-3 Estructuras de algunas fluoroquinolonas.

CUADRO 28-5 Quinolonas[a]

Primera generación
Ácido nalidíxico
Cinoxacina
Ácido oxolínico
Segunda generación
Ciprofloxacina
Enoxacina
Lomefloxacina
Ofloxacina
Tercera y cuarta generaciones
Clinafloxacina
Gatifloxacina
Gemifloxacina
Levofloxacina
Moxifloxacina
Pefloxacina
Esparfloxacina
Garenoxacina

[a]Cortesía de B. Joseph Guglielmo, PharmD.

CUADRO 28-6 Espectro relativo de la actividad antibacteriana de las quinolonas[a]

Fuerte	Moderada	Débil
Actividad contra grampositivos		
Clinafloxacina	Ofloxacina	Lomefloxacina
Gatifloxacina	Ciprofloxacina	Norfloxacina
Gemifloxacina	Enoxacina	Pefloxacina
Levofloxacina		
Moxifloxacina		
Garenoxacina		
Actividad contra gramnegativos		
Clinafloxacina	Enoxacina	Norfloxacina
Ciprofloxacina	Gatifloxacina	
Pefloxacina	Gemifloxacina	
	Levofloxacina	
	Lomefloxacina	
	Moxifloxacina	
	Ofloxacina	
	Esparfloxacina	
	Garenoxacina	
Actividad contra anaerobios		
Clinafloxacina	Esparfloxacina	Ciprofloxacina
Gatifloxacina	Levofloxacina	Lomefloxacina
Gemifloxacina	Ofloxacina	Enoxacina
Moxifloxacina		Pefloxacina
Garenoxacina		

[a]Cortesía de B. Joseph Guglielmo, PharmD.

quinolonas son satisfactorias para el tratamiento de infecciones bacterianas ginecológicas y de los tejidos blandos graves y para la osteomielitis por microorganismos gramnegativos. Si bien mejoran algunas exacerbaciones de la fibrosis quística por pseudomonas, cerca de 33% de estos microorganismos mucoides es resistente.

Efectos adversos

Los principales efectos adversos son náusea, insomnio, cefalea y mareo. En ocasiones se acompaña de otras molestias digestivas, alteraciones de la función hepática, eritemas cutáneos y superinfecciones, en especial por enterococos y estafilococos. En los cachorros, la administración prolongada de fluoroquinolonas provoca lesión articular y por esta razón se prescriben rara vez en niños, pero se utilizan como sea necesario en los pacientes con fibrosis quística. Se han publicado casos de alteraciones de la glucemia que generan hipoglucemia pronunciada con los medicamentos más recientes, pero han sido más frecuentes en los pacientes que han recibido gatifloxacina.

SULFONAMIDAS Y TRIMETOPRIM

Las sulfonamidas forman un grupo de compuestos con la fórmula básica que se mostró antes en este capítulo. Al sustituir diversos radicales R se obtiene una serie de compuestos con distintas propiedades físicas, farmacológicas y antibacterianas. El mecanismo básico de acción de todos estos compuestos es la inhibición competitiva de la utilización de PABA. La aplicación simultánea de sulfonamidas con trimetoprim inhibe los pasos metabólicos secuenciales y quizá tiene sinergia antibacteriana.

Las sulfonamidas son bacteriostáticas para algunas bacterias gramnegativas y grampositivas, clamidias, nocardias y protozoarios.

Las sulfonamidas "solubles" (p. ej., trisulfapirimidinas, sulfisoxazol) se absorben fácilmente del aparato digestivo después de su administración por vía oral y se distribuyen en todos los tejidos y líquidos del cuerpo. La mayor parte de las sulfonamidas se excreta rápidamente en la orina. Otras (p. ej., sulfametoxipiridazina) se excretan lentamente y, por lo tanto, tienden a ser tóxicas. Actualmente las sulfonamidas son en especial útiles en el tratamiento de la nocardiosis y los primeros ataques de infecciones urinarias por bacterias coliformes. Por el contrario, numerosos meningococos, shigelas, estreptococos del grupo A y microorganismos que causan infecciones urinarias ahora son resistentes. En las infecciones urinarias, shigelosis, salmonelosis, infecciones por otras bacterias gramnegativas y neumonía por penumocystis actualmente se utiliza una mezcla de cinco partes de sulfametoxazol con una parte de trimetoprim.

El trimetoprim aislado también es un tratamiento efectivo contra las infecciones urinarias no complicadas.

Resistencia

Los microorganismos que no utilizan PABA extracelular pero, al igual que las células de mamífero, pueden utilizar ácido fólico preformado son resistentes a las sulfonamidas. En algunos mu-

tantes resistentes a la sulfonamida, la sintetasa de ácido tetrahidropteroico tiene una afinidad mucho mayor por PABA que las sulfonamidas. Lo opuesto ocurre con los microorganismos sensibles a la sulfonamida.

Efectos secundarios

Las sulfonamidas solubles tienen efectos secundarios que pertenecen a dos categorías: alergia y efectos adversos. Muchas personas manifiestan hipersensibilidad a las sulfonamidas después de su primer contacto con estos fármacos y, al tener contacto de nuevo, exhiben fiebre, urticaria, eritemas cutáneos y trastornos vasculares crónicos como poliarteritis nudosa. Los efectos adversos se manifiestan por fiebre, eritemas cutáneos, trastornos digestivos, depresión medular que genera anemia o agranulocitosis, anemia hemolítica y anormalidades de las funciones hepática y renal. Los efectos adversos son más frecuentes en los pacientes con sida.

Examen bacteriológico

Durante el cultivo de las muestras de los pacientes que reciben sulfonamidas, la incorporación de PABA (5 mg/100 ml) en el medio supera la inhibición de la sulfonamida.

OTROS FÁRMACOS CON APLICACIONES ESPECIALIZADAS

Trimetrexato

El trimetrexato es un análogo del ácido folínico cuyo mecanismo de acción es la inhibición de la dihidrofolato reductasa. La aplicación principal del trimetrexato es el tratamiento de las infecciones por *P. jiroveci* en los pacientes con sida que no toleran o son refractarios al trimetoprim-sulfametoxazol y el isetionato de pentamidina. Puesto que el trimetrexato es lipófilo, se difunde de forma pasiva a través de las membranas celulares del hospedador acompañado de una serie de efectos adversos, principalmente supresión medular. Por tanto, se debe administrar con leucovorín cálcico, una coenzima reducida de folato, que es transportada hacia las células hospedadoras y las protege, pero no a *P. jiroveci*.

Dapsona

La dapsona es una sulfona muy similar a las sulfonamidas. Durante el tratamiento inicial de la lepra a menudo se utiliza una combinación de dapsona y rifampicina. La dapsona también se utiliza para el tratamiento de la neumonía por *Pneumocystis* en los pacientes con sida. La dapsona se absorbe bien del aparato digestivo y se distribuye extensamente en los tejidos. Sus efectos secundarios son frecuentes y comprenden anemia hemolítica, intolerancia digestiva, fiebre, prurito y eritemas.

H_2N–C$_6$H$_4$–SO_2–C$_6$H$_4$–NH_2

Dapsona

Metronidazol

El metronidazol es un antiprotozoario utilizado en el tratamiento de las infecciones por tricomonas, giardia y amebas. También tiene efectos sorprendentes sobre las infecciones causadas por bacterias anaerobias como las especies de *Bacteroides* y la vaginosis bacteriana. Asimismo es efectivo para la preparación preoperatoria del colon y en la diarrea por antibióticos causada por *C. difficile* toxígeno. Sus efectos adversos comprenden estomatitis, diarrea y náusea.

Antisépticos urinarios

Éstos son fármacos con efectos antibacterianos limitados a la orina. No alcanzan una concentración suficiente en los tejidos y, por lo tanto, carecen de efectos sobre las infecciones generalizadas. No obstante, reducen de manera efectiva el recuento de bacterias en la orina y reducen los síntomas de las infecciones urinarias. Se utilizan exclusivamente en el tratamiento de las infecciones urinarias.

Los siguientes son antisépticos urinarios utilizados frecuentemente: nitrofurantoína, fosfomicina, ácido nalidíxico, mandelato de metenamina e hipurato de metenamina. La nitrofurantoína es activa contra muchas bacterias, pero en ocasiones provoca molestias digestivas. La fosfomicina es un derivado del ácido fosfónico que en Estados Unidos se utiliza en una sola dosis como tratamiento de las infecciones urinarias por *E. coli* y otras Enterobacteriaceae y enterococos. El ácido nalidíxico, una quinolona, es efectivo únicamente en la orina, pero se forman bacterias resistentes con rapidez. Tanto el mandelato como el hipurato de metenamina acidifican la orina y liberan formaldehído. Otras sustancias que acidifican la orina (p. ej., metionina, jugo de arándano) son bacteriostáticos urinarios.

En las infecciones urinarias agudas por lo general se prefieren los medicamentos orales que se absorben sistémicamente y se excretan en concentraciones elevadas en la orina. Estos medicamentos comprenden ampicilina, amoxicilina, sulfonamidas, quinolonas y otras.

FÁRMACOS UTILIZADOS SOBRE TODO PARA TRATAMIENTO DE INFECCIONES MICOBACTERIANAS

Isoniazida

La isoniazida tiene efectos mínimos en la mayor parte de las bacterias, pero es muy activa contra las micobacterias, en especial contra *M. tuberculosis*. Inhibe y aniquila *in vitro*, a dosis de 0.1 a 1 μg/ml a la mayor parte de los bacilos tuberculosos, las poblaciones grandes de estos bacilos casi siempre contienen microorganismos resistentes a la isoniazida. Es por esta razón que el medicamento se combina con otros antimicobacterianos (en especial etambutol o rifampicina) para reducir el surgimiento de bacilos tuberculosos resistentes. La isoniazida actúa sobre las micobacterias inhibiendo la síntesis de ácidos micólicos. La isoniazida y la piridoxina son análogos estructurales. Los pacientes que reciben isoniazida excretan cantidades excesivas de piridoxina, lo que genera neuritis periférica. Esta complicación se previene administrando piridoxina, que no interfiere con la acción antituberculosa de la isoniazida.

Isoniazida

Piridoxina

La isoniazida se absorbe rápida y completamente del aparato digestivo, donde una parte es acetilada y otra parte se excreta en la orina. Con las dosis habituales son raras las reacciones adversas, como efectos hepatotóxicos. La isoniazida se difunde libremente en los líquidos y tejidos, incluido el líquido cefalorraquídeo.

Si el resultado negativo de la prueba de la tuberculina se torna positivo, la isoniazida se puede utilizar como profilaxis.

Etambutol

El etambutol es un isómero D sintético termoestable e hidrosoluble de la estructura que se muestra a continuación:

Etambutol

El etambutol, a dosis de 1 a 5 μg/ml, inhibe *in vitro* a muchas cepas de *M. tuberculosis* y de micobacterias "atípicas".

El etambutol se absorbe bien del intestino. Aproximadamente 20% del fármaco se excreta en las heces fecales y 50% en la orina sin cambiar. Su excreción se retrasa en caso de insuficiencia renal. En la meningitis, el etambutol aparece en el líquido cefalorraquídeo.

Entre las micobacterias, la resistencia al etambutol surge con rapidez cuando se utiliza en forma aislada. Por consiguiente, se debe combinar con otro antituberculoso.

El etambutol se administra por lo general en forma de dosis única por vía oral. La hipersensibilidad a este fármaco se presenta en pocas ocasiones. Sus efectos secundarios más frecuentes son alteraciones visuales, pero son raras a las dosis tradicionales: menor agudeza visual, neuritis óptica y quizá lesión retiniana en algunos pacientes que reciben dosis elevadas durante varios meses. La mayor parte de estos cambios al parecer sufre regresión al suspender el etambutol. No obstante, durante el tratamiento es necesario realizar pruebas periódicas de la agudeza visual. Si se utiliza una dosis baja los trastornos visuales son muy raros.

Rifampicina

La rifampicina es un derivado semisintético de la rifamicina, antibiótico producido por *Streptomyces mediterranei*. Es activa *in vitro* contra algunos cocos grampositivos y gramnegativos, ciertas bacterias intestinales, micobacterias, clamidias y poxvirus. A pesar de que con menos de 1 μg/ml los meningococos y micobacterias se inhiben, en casi todas las poblaciones de microorganismos aparecen mutantes altamente resistentes con una frecuencia de 10^{-6} a 10^{-5}. La administración prolongada de rifampicina en forma aislada permite el surgimiento de estos mutantes altamente resistentes. No existe resistencia cruzada con otros antimicrobianos.

La rifampicina se fija con fuerza a la polimerasa de RNA dependiente del DNA y, por lo tanto, inhibe la síntesis bacteriana de RNA. Bloquea una de las últimas fases en el ensamble de los poxvirus. Penetra bastante bien en los fagocitos y aniquila a los microorganismos intracelulares. Los mutantes resistentes a la rifampicina exhiben una polimerasa de RNA modificada.

La rifampicina se absorbe bien tras su ingestión por vía oral, se distribuye ampliamente en los tejidos y es excretada principalmente a través del hígado y en menor grado en la orina.

En la tuberculosis se administra una sola dosis por vía oral combinada con etambutol, isoniazida o algún otro antituberculoso para retrasar el surgimiento de micobacterias resistentes a la rifampicina. En el caso de las micobacterias atípicas se puede utilizar un régimen similar. En los tratamientos de corto plazo para tuberculosis la rifampicina se administra por vía oral, al principio diariamente (con isoniazida) y luego dos o tres veces por semana durante seis a nueve meses. No obstante, es importante administrar cuando menos dos dosis por semana para prevenir el "síndrome semejante a influenza" y la anemia. La rifampicina combinada con una sulfona es efectiva en la lepra.

La rifampicina por vía oral elimina la mayor parte de los meningococos en los portadores. Desafortunadamente, este proceso selecciona algunas cepas de meningococo que son altamente resistentes. Las personas que tienen contacto cercano con niños con infecciones por *H. influenzae* (p. ej., en la familia o en la guardería) pueden recibir rifampicina como profilaxis. En las infecciones urinarias y bronquitis crónica la rifampicina carece de utilidad por el surgimiento inmediato de resistencia.

La rifampicina confiere un color naranja inocuo a la orina, sudor y lentes de contacto. Algunos de sus efectos adversos ocasionales son eritemas, trombocitopenia, proteinuria de cadena ligera y deterioro de la función hepática. La rifampicina induce enzimas microsomales (p. ej., citocromo P450).

La **rifabutina** es un antimicrobiano similar, activo en la prevención de la infección por el complejo de *M. avium*.

La **rifaximina** es un derivado de la rifampicina que posee un anillo adicional de piridoimidazol. No se absorbe por vía oral y es de utilidad en el tratamiento de la diarrea del viajero y como tratamiento de refuerzo en la infección por *C. difficile*.

Pirazinamida

La pirazinamida es similar a la nicotinamida. Se absorbe fácilmente del aparato digestivo y se distribuye de manera extensa en los tejidos. *M. tuberculosis* crea resistencia rápidamente a la pirazinamida, pero no tiene resistencia cruzada con la isoniazida

ni otros antituberculosos. Sus principales efectos adversos son secuelas hepatotóxicas (1 a 5%), náusea, vómito, hipersensibilidad e hiperuricemia.

Pirazinamida (PZA)

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿El antimicrobiano que corresponde a esta fórmula química es el medicamento de elección en el tratamiento de las infecciones causadas por cuál de los microorganismos siguientes?
   (A) *Bacteroides fragilis*
   (B) *Pseudomonas aeruginosa*
   (C) Virus de herpes simple
   (D) *Streptococcus pyogenes* (estreptococo del grupo A)
   (E) *Mycobacterium tuberculosis*
2. La resistencia de *Staphylococcus aureus* al fármaco que se muestra arriba es secundaria a
   (A) La acción de la acetiltransferasa
   (B) La acción de la lactamasa β
   (C) La sustitución del dipéptido D-Ala-D-Ala por el dipéptido D-Ala-D-Lac en el peptidoglucano de la pared celular
   (D) La permeabilidad reducida de la pared bacteriana celular al fármaco
   (E) El hecho de que *Staphylococcus aureus* es un microorganismo patógeno intracelular
3. La resistencia de *Streptococcus pneumoniae* al fármaco que se muestra arriba es secundaria a
   (A) La acción de la acetiltransferasa
   (B) La acción de la lactamasa β
   (C) La sustitución del dipéptido D-Ala-D-Ala por el dipéptido D-Ala-D-Lac en el peptidoglucano de la pared celular
   (D) La permeabilidad reducida de la pared bacteriana celular al fármaco
   (E) Las proteínas enlazadoras modificadas desde el punto de vista genético en la pared celular bacteriana
4. Las aseveraciones siguientes sobre la resistencia de los enterococos a los antimicrobianos son correctas, *excepto*:
   (A) Los enterococos son resistentes al sulfametoxazol-trimetoprim *in vivo*
   (B) Las cefalosporinas son inactivas contra los enterococos
   (C) Ha surgido resistencia a las estreptograminas (quinupristina-dalfopristina)
   (D) En Europa y Estados Unidos son raros los enterococos resistentes a la vancomicina
   (E) Los enterococos resistentes a la vancomicina que una vez fueron consistentemente clonales y ahora lo son pero en forma heterogénea
5. Una mujer asiática de 20 años de edad inmigrante reciente a Estados Unidos desarrolla fiebre y tos productiva con esputo hemático. Ha bajado 6 kg de peso en las últimas seis semanas. Su radiografía de tórax exhibe infiltrados en los lóbulos superiores con cavidades. En vista de su historia clínica y la radiografía, ¿cuál de los esquemas medicamentosos sería el mejor como tratamiento inicial mientras se esperan los resultados del cultivo?
   (A) Isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol
   (B) Penicilina G y rifampicina
   (C) Cefotaxima, clindamicina y trimetoprim-sulfametoxazol
   (D) Ampicilina/sulbactam
   (E) Vancomicina, gentamicina y clindamicina
6. ¿Los aminoglucósidos suelen causar cuáles de las reacciones adversas siguientes?
   (A) Anemia aplástica
   (B) Estímulo inespecífico de células B
   (C) Efectos ototóxicos y nefrotóxicos
   (D) Fotosensibilidad
7. ¿Cuál de los grupos siguientes de antimicrobianos actúa en los microorganismos inhibiendo su síntesis de proteínas?
   (A) Fluoroquinolonas
   (B) Aminoglucósidos
   (C) Penicilinas
   (D) Glucopéptidos (p. ej., vancomicina)
   (E) Polimixinas
8. Existen numerosas combinaciones de resistencia bacteriana-antimicrobiana. ¿Cuál de las siguientes es preocupante desde el punto de vista internacional?
   (A) Resistencia a las sulfonamidas en *Neisseria meningitidis*
   (B) Resistencia a la penicilina G en *Neisseria gonorrhoeae*
   (C) Resistencia a la ampicilina en *Haemophilus influenzae*
   (D) Resistencia a la eritromicina en *Streptococcus pyogenes* (estreptococo del grupo A)
   (E) Resistencia a la vancomicina en *Staphylococcus aureus*
9. ¿Cuál de los factores siguientes no suele tomarse en consideración cuando se selecciona el tratamiento antimicrobiano inicial para una infección?
   (A) Edad del paciente
   (B) Ubicación anatómica de la infección (p. ej., meningitis o infección urinaria)
   (C) Si el paciente padece o no inmunodepresión
   (D) Si el paciente tiene algún implante (p. ej., prótesis de cadera, prótesis valvular cardiaca, sonda vesical)
   (E) Esperar el resultado del cultivo y las pruebas de sensibilidad
10. Los fármacos siguientes poseen buena actividad contra los microorganismos grampositivos, *excepto*:
    (A) Daptomicina
    (B) Vancomicina
    (C) Aztreonam
    (D) Quinupristina-dalfopristina
    (E) Tigeciclina
11. La tigeciclina, una nueva glicilciclina activa contra diversos microorganismos patógenos, se utiliza principalmente en el tratamiento de las infecciones siguientes
    (A) Meningitis
    (B) Infecciones intraabdominales por bacterias aerobias y anaerobias mixtas
    (C) Sepsis neonatal
    (D) Uretritis por *Chlamydia trachomatis*
    (E) Como monoterapia para la bacteriemia por *Acinetobacter baumannii*

12. ¿Cuál de los carbapenémicos siguientes carece de actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*?
    (A) imipenem
    (B) meropenem
    (C) doripenem
    (D) ertapenem
13. ¿Cuál de los fármacos siguientes no demuestra un efecto posantibiótico contra los bacilos gramnegativos?
    (A) imipenem
    (B) ciprofloxacina
    (C) gentamicina
    (D) ampicilina
14. Los siguientes son mecanismos frecuentes de resistencia a las penicilinas, *excepto*:
    (A) Producción de lactamasas β
    (B) Modificaciones en los receptores de acción (PBP)
    (C) Incapacidad para activar a las enzimas autolíticas
    (D) Fracaso para sintetizar peptidoglucanos
    (E) Metilación del RNA ribosomal
15. La primera elección para el tratamiento de las infecciones graves por *Bacteroides fragilis* es
    (A) Clindamicina
    (B) Ampicilina
    (C) Cefoxitina
    (D) Metronidazol
    (E) Amoxicilina-clavulanato

Respuestas

1. D	5. A	9. E	13. D
2. B	6. C	10. C	14. E
3. E	7. B	11. B	15. D
4. D	8. E	12. D	

BIBLIOGRAFÍA

Lundstrom TS, Sobel JD: Antibiotics for gram-positive bacterial infections: vancomycin, quinupristin-dalfopristin, linezolid, and daptomycin. Infect Dis Clin North Am 2004;18:651.

Meagher AK, et al: Pharmacokinetic/pharmacodynamic profile for tigecycline—A new glycylcycline antimicrobial agent. Diagn Microbiol Infect Dis 2005;52:165.

Moellering RC et al: Anti-infective therapy. Volume I Part I Section E, In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.

O'Donnell JA, Gelone SP: The newer fluoroquinolones. Infect Dis Clin North Am 2004;18:691.

Opal SM and Pop-Vicas A: Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. In *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone Elsevier, 2010.

Perez F, Endimiani A, Hujer KM, Bonomo RA. The continuing challenge of ESBLs. Curr Opin Pharmacol 2007;7:459.

Richter SS, Heilmann KP, Dohrn CL, Riahi F, Beekman SE, Doem GV: Changing epidemiology of antimicrobial resistant *Streptococcus pneumoniae* in the United States, 2004-2005. Clin Infect Dis 2009;48:e23.

Yu VL, Merrigan TC Jr, Barriere SL (editors): *Antimicrobial Therapy and Vaccines.* Williams & Wilkins, 1999.

SECCIÓN IV VIROLOGÍA

CAPÍTULO

29

Propiedades generales de los virus

Los virus son los agentes infecciosos más pequeños (con tamaños que van de casi 20 nm a 300 nm de diámetro) y contienen sólo un tipo de ácido nucleico (RNA o DNA) en su genoma. El ácido nucleico está rodeado por una cubierta proteínica, que puede estar rodeada por una membrana que contiene lípidos. La totalidad de la unidad infecciosa se denomina virión. Los virus son inertes en el entorno extracelular; se replican sólo en células vivas donde actúan como parásitos al nivel genético. El ácido nucleico viral contiene la información necesaria para la programación de la célula hospedadora infectada para sintetizar macromoléculas virales específicas necesarias para la producción de la progenie viral.

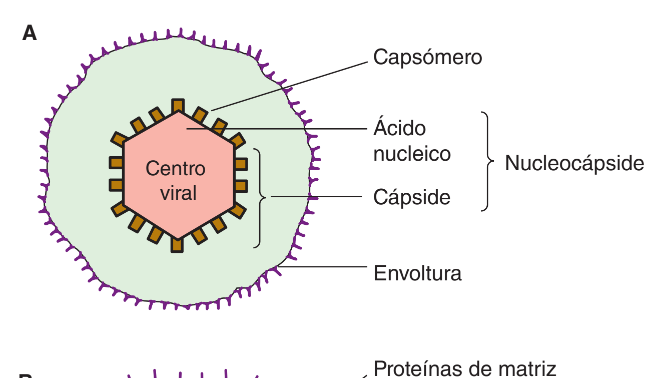
Durante este ciclo de replicación se producen numerosas copias de ácidos nucleicos virales y cubiertas proteínicas. Estas últimas se ensamblan para formar una cápside, que rodea y estabiliza el ácido nucleico viral y lo protege del entorno extracelular y facilita la unión y penetración del virus hasta que hay contacto con una nueva célula susceptible. La infección viral puede tener poco o ningún efecto en la célula hospedadora o puede causar daño o muerte celulares.

El universo de los virus tiene una gran diversidad; varían en gran medida en cuanto a estructura, organización y expresión genómicas, así como en las estrategias de replicación y transmisión. El rango de hospedador para un virus dado puede ser muy amplio o extremadamente limitado. Se sabe que los virus infectan microorganismos unicelulares como micoplasmas, bacterias y algas, así como a plantas y animales superiores. Los efectos generales de las infecciones virales en el hospedador se revisan en el capítulo 30.

Gran parte de la información con respecto a las relaciones entre virus-hospedador se han obtenido de estudios realizados en bacteriófagos, los virus que atacan a las bacterias. Este tema se revisa en el capítulo 7. Las propiedades de los virus individuales se revisan en los capítulos 31 a 44.

TÉRMINOS Y DEFINICIONES EN VIROLOGÍA

En la figura 29-1 se muestran esquemas de virus con simetría icosaédrica y helicoidal. Los componentes virales indicados se describen a continuación.



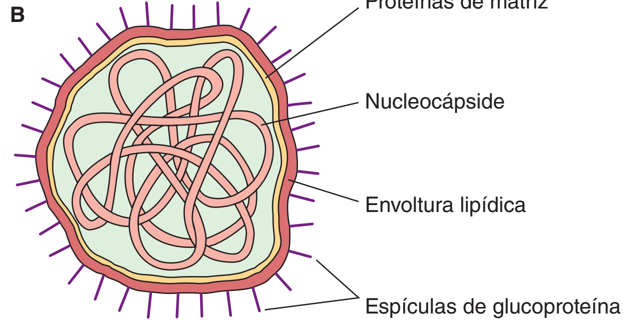


FIGURA 29-1 Esquema que ilustra los componentes de la partícula viral completa (virión). **A:** Virus envuelto con simetría icosaédrica. **B:** Virus con simetría helicoidal.

Cápside: cubierta proteínica que rodea al ácido nucleico del genoma.

Capsómeros: unidades morfológicas que se observan en la microscopia electrónica en la superficie de partículas virales icosaédricas. Los capsómeros representan grupos de polipéptidos, pero las unidades morfológicas no corresponden necesariamente con unidades estructurales definidas desde el punto de vista químico.

Virus defectuosos: una partícula viral que es deficiente desde el punto de vista funcional en algunos aspectos de la replicación.

Cubierta: una membrana con lípidos que rodea algunas partículas virales. Se adquiere durante la maduración viral por un proceso de gemación a través de la membrana celular. Las glucoproteínas codificadas por el virus se exponen en la superficie de la cubierta. Estas proyecciones se denominan **peplómeros.**

Nucleocápside: complejo de proteínas-ácido nucleico que representa la forma empacada del genoma viral. El término se utiliza a menudo en casos donde la nucleocápside es una subestructura de una partícula viral más compleja.

Unidades estructurales: proteínas básicas de los bloques de construcción de la cubierta. Por lo común son acumulaciones de más de una subunidad proteínica idéntica. La unidad estructural a menudo se conoce como **protómero**.

Subunidad: cadena polipeptídica viral con un solo doblez.

Virión: partícula viral completa. En algunos casos (p. ej., virus del papiloma, picornavirus) el virión es idéntico a la nucleocápside. En viriones más complejos (herpes virus, ortomixovirus), esto incluye la nucleocápside además de la cubierta circundante. Esta estructura, el virión, sirve para transferir ácido nucleico viral de una célula a otra.

ORÍGENES EVOLUTIVOS DE LOS VIRUS

Se desconoce el origen de los virus. Existen notables diferencias entre los DNAvirus y RNAvirus y aquellos virus que utilizan tanto DNA como RNA en su material genético durante diferentes etapas de su ciclo vital. Es posible que tipos diferentes de agentes tengan orígenes diferentes. Las dos teorías del origen de los virus puede resumirse de la siguiente manera:

1. Los virus pueden derivarse de componentes de ácidos nucleicos de DNA o RNA de células hospedadoras que adquieren la capacidad de replicarse en forma autónoma y evolucionar en forma independiente. Son similares a genes que han adquirido la capacidad de existir en forma independiente de la célula. Algunas secuencias virales se relacionan con porciones de genes celulares que codifican dominios proteínicos funcionales. Parecería que al menos algunos virus han evolucionado en esta forma.
2. Los virus pueden ser formas degeneradas de parásitos intracelulares. No existe evidencia de que los virus hayan evolucionado a partir de bacterias, aunque otros microorganismos intracelulares obligados, como rickettsias y clamidias probablemente lo hicieron. Sin embargo, los poxvirus son tan grandes y complejos que podrían representar productos de la evolución de algunos ancestros celulares.

CLASIFICACIÓN DE LOS VIRUS

Bases de la clasificación

Las siguientes propiedades se han utilizado como base para la clasificación de los virus. La cantidad de información disponible en cada categoría no es la misma para todos los virus. Las características virales cambian con rapidez. Hoy en día se realiza secuenciación genómica en etapas tempranas de la identificación viral y las comparaciones con bases de datos evita la necesidad de obtener datos más clásicos (densidad del virión, etc.). Los datos de secuenciación genómica son criterios taxonómicos avanzados (orden genético) y pueden proporcionar las bases para la identificación de nuevas familias de virus.

1. Morfología del virión, lo que incluye tamaño, forma, tipo de simetría, presencia o ausencia de peplómeros y presencia o ausencia de membranas.
2. Propiedades del genoma viral, lo que incluye el tipo de ácido nucleico (DNA o RNA), tamaño del genoma en kilobases (kb) o pares de kilobases (kbp), número de cadenas (sencilla o doble), lineal o circular, sentido (positivo, negativo, en ambos sentidos), segmentos (número, tamaño), secuencia de nucleótidos, contenido de G + C y presencia de características especiales (elementos repetitivos, isomerización, cubierta 5′-terminal, proteínas con unión covalente al extremo 5′-terminal, trayecto poli(A) 3′-terminal).
3. Propiedades fisicoquímicas del virión, lo que incluye su masa molecular, densidad, pH de estabilidad, estabilidad térmica y susceptibilidad a los agentes físicos y químicos, en especial al éter y detergentes.
4. Propiedades de las proteínas virales, lo que incluye el número, tamaño y actividad funcional de las proteínas estructurales y no estructurales, secuencia de aminoácidos, modificaciones (glucosilación, fosforilación, miristilación) y actividades funcionales especiales (transcriptasa, transcriptasa inversa, neuraminidasa, actividades de fusión).
5. Organización del genoma y de la replicación, lo que incluye el orden de los genes, número y posición de los marcos de lectura abierta, estrategias de replicación (patrones de transcripción, traducción) y sitio celulares (acumulación de proteínas, ensamble de viriones, liberación de viriones).
6. Propiedades antigénicas.
7. Propiedades biológicas, lo que incluye el rango natural de hospedadores, modo de transmisión, relaciones con vectores, patogenicidad, tropismo hístico y patología.

Sistema taxonómico universal de virus

Se ha establecido un sistema en el cual los virus se separan en grupos principales (denominados familias) con base en la morfología del virión, estructura del genoma y estrategias de replicación. Los nombres de familia de virus tienen el sufijo **-viridae**. En el cuadro 29-1 se muestra un esquema conveniente utilizado con fines de clasificación. Los diagramas de las familias de virus animales se muestran en la figura 29-3.

En cada familia hay subdivisiones, conocidas como género y que por lo común se basan en diferencias fisicoquímicas o se-

CUADRO 29-1 Familias de virus animales que contienen miembros capaces de infectar a seres humanos

Ácido nucleico principal	Simetría de la cápside	Virión: envuelto o desnudo	Sensibilidad al éter	Número de capsómeros	Tamaño de la partícula viral[a]	Tamaño del ácido nucleico en el virión (kb/kbp)	Tipo físico de ácido nucleico[b]	Familia de virus
DNA	Icosaédrica	Desnudo	Resistente	32	18-26	5.6	ss	Parvoviridae
				72	45	5	ds circular	Polyomaviridae
				72	55	8	ds circular	Papillomaviridae
				252	70-90	26-45	ds	Adenoviridae
		Envuelto	Sensible	180	40-48	3.2	ds circular[c]	Hepadnaviridae
				162	150-200	125-240	ds	Herpesviridae
	Complejo	Cubierta compleja	Resistente[d]		230 × 400	130-375	ds	Poxviridae
RNA	Icosaédrica	Desnuda	Resistente	32	28-30	7.2-8.4	ss	Picornaviridae
					28-30	6.4-7.4	ss	Astroviridae
				32	27-40	7.4-8.3	ss	Caliciviridae
					27-34	7.2	ss	Hepeviridae
					60-80	16-27	ds segmentado	Reoviridae
		Envuelto	Sensible	42	50-70	9.7-11.8	ss	Togaviridae
	Desconocido o complejo	Envuelto	Sensible		40-60	9.5-12.5	ss	Flaviviridae
					50-300	10-14	ss segmentado	Arenaviridae
					120-160	27-32	ss	Coronaviridae
					80-110	7-11[e]	ss diploide	Retroviridae
	Helicoidal	Envuelto	Sensible		80-120	10-13.6	ss segmentado	Orthomyxoviridae
					80-120	11-21	ss segmentado	Bunyaviridae
					80-125	8.5-10.5	ss	Bornaviridae
					75× 180	13-16	ss	Rhabdoviridae
					150-300	16-20	ss	Paramyxoviridae
					80×1000[f]	19.1	ss	Filoviridae

[a]Diámetro o diámetro × longitud.

[b]ds, bicatenario; ss, monocatenario.

[c]La cadena de sentido negativo tiene una longitud constante de 3.2 kb; las otras varían en longitud, dejando una brecha grande en la cadena única.

[d]El género *Orthopoxvirus* que incluye a los poxvirus mejor estudiados (p. ej., vaccinia) es resistente al éter; algunos poxvirus pertenecen a otros géneros y son sensibles al éter.

[e]Tamaño del monómero.

[f]Las formas filamentosas varían en gran medida en cuanto a longitud.

rológicas. Los criterios utilizados para definir los géneros varían de una familia a otra. Los nombres del género se acompañan del sufijo *-virus*. En las cuatro familias (Poxviridae, Herpesviridae, Parvoviridae, Paramyxoviridae) se han definido unos agrupamientos más grandes denominados subfamilias, que refleja la complejidad de las relaciones entre los virus. Pueden utilizarse órdenes de virus para agrupar las familias de virus que comparten características comunes. Por ejemplo, la orden de los Mononegavirales abarca las familias Bornaviridae, Filoviridae, Paramyxoviridae y Rhabdoviridae.

Para el año 2000, el *International Committee on Taxonomy of Viruses* había organizado más de 4 000 virus animales y de plantas en 56 familias y 233 géneros, con cientos de virus aún no asignados. De éstos, 24 familias contenían virus infecciosos para seres humanos y animales.

Las propiedades de las principales familias de virus animales que contienen miembros importantes en la enfermedad humana se resumen en el cuadro 29-1. Más adelante se revisan en forma breve, en el orden mostrado en el cuadro 29-1 y se revisan con mayor detalle en los capítulos siguientes.

Revisión rápida de virus que contienen DNA

A. Parvovirus

Los parvovirus son virus muy pequeños con un tamaño de partícula de casi 18 a 26 nm. Las partículas tienen simetría cúbica, con 32 capsómeros pero no tienen envoltura. El genoma es DNA lineal monocatenario, con un tamaño de 5.6 kb. La replicación ocurre sólo en las células con división activa; la cápside se ensambla en el núcleo de la célula infectada. Muchos parvovirus se replican en forma autónoma, pero los virus satélite adenorrelacionados son defectuosos, y requieren la presencia de adenovirus o herpesvirus como "auxiliadores". Los parvovirus humanos B19 se replican en células eritroides inmaduras y causan varias consecuencias adversas, lo que incluye crisis aplásica, quinta enfermedad y muerte fetal (cap. 31).

B. Poliomavirus

Son virus pequeños (45 nm), sin envoltura, termoestables y resistentes al éter que muestran simetría cúbica con 72 capsómeros. El

genoma consiste en DNA circular bicatenario con un tamaño de 5 kbp. Estos virus tienen un ciclo de crecimiento lento, estimulan la síntesis de DNA celular y se replican en el interior del núcleo. La mayor parte de los poliomavirus humanos bien conocidos son los virus JC, los agentes causales de la leucoencefalopatía multifocal progresiva y los virus BK, relacionados con nefropatía en receptores de trasplante. Los virus SV40 también infectan seres humanos y se han recuperado de tumores humanos. La mayor parte de las especies animales portan uno o más poliomavirus. Producen infecciones crónicas en sus hospedadores naturales y pueden inducir tumores en algunas especies animales. Los poliomavirus con anterioridad formaban parte de la familia Papovaviridae, antes de que se dividieran en dos familias (cap. 43).

C. Virus del papiloma

Este virus, antes perteneciente a la familia Papovaviridae, es similar a los poliomavirus en algunos aspectos, pero tiene un genoma más grande (8 kbp) y un mayor tamaño de la partícula (55 nm). Hay muchos genotipos del virus del papiloma humano, también conocido como "virus de las verrugas" y ciertos tipos de estos virus son agentes causales de cánceres genitales en seres humanos. Los virus del papiloma son muy específicos de los tejidos y del hospedador. Muchas especies animales son portadoras de virus de papiloma (cap. 43).

D. Adenovirus

Son virus de tamaño mediano (70 a 90 nm), sin envoltura que muestran simetría cúbica, con 252 capsómeros. Se observa protrusión de fibras de los capsómeros del vértice. El genoma consiste en DNA lineal bicatenario, con un tamaño de 26 a 45 kbp. Ocurre replicación en el núcleo. Los patrones complejos de empalme (splicing) producen mRNA. Al menos 51 tipos causan infección en seres humanos, en especial en mucosas y algunos tipos pueden persistir en el tejido linfoide. Otros adenovirus causan enfermedades respiratorias agudas, conjuntivitis y gastroenteritis. Otros adenovirus humanos pueden inducir tumores en el hámster recién nacido. Varios serotipos producen infección en animales (caps. 32 y 43).

E. Hepadnavirus

Son virus pequeños (40 a 48 nm) que contienen DNA circular bicatenario con un tamaño de 3.2 kbp. El DNA viral en las partículas contiene un intervalo grande monocatenario. La replicación incluye reparación del intervalo grande monocatenario en el DNA, transcripción de RNA y acción de transcriptasa inversa de RNA para sintetizar el DNA genómico. El virus consiste en una nucleocápside icosaédrica de 27 nm en una cubierta adherente que contiene lípidos y antígenos de superficie viral. Las proteínas de superficie en forma característica se producen en cantidades excesivas durante la replicación del virus, lo cual ocurre en el hígado y se diseminan hacia el torrente sanguíneo. Los hepadnavirus causan hepatitis aguda y crónica; las infecciones persistentes se relacionan con alto riesgo de desarrollar cáncer hepático. Se sabe que algunos tipos de virus infectan mamíferos y patos (cap. 35).

F. Herpesvirus

Es una gran familia de virus con diámetros de 150 a 200 nm de diámetro. Una nucleocápside tiene 100 nanómetros de diámetro, con simetría cúbica y 162 capsómeros rodeados por una cubierta que contiene lípidos. El genoma consiste en DNA lineal bicatenario, con un tamaño de 125 a 240 kbp. La presencia de secuencias reiterativas terminal interna ocasiona varias formas isoméricas de DNA genómico. Los viriones contienen más de 30 proteínas. Las infecciones latentes pueden durar por el resto de la vida del hospedador, por lo general en células de los ganglios nerviosos o linfoblastoides. Los herpesvirus humanos incluyen herpesvirus simple de tipos 1 y 2 (lesiones bucales y genitales), virus de varicela-zoster (varicela y herpes zoster), citomegalovirus, virus de Epstein-Barr (mononucleosis infecciosa y relación con neoplasias humanas), herpesvirus humano tipos 6 y 7 (linfotrófico T) y herpesvirus humano 8 (relacionado con sarcoma de Kaposi). En muchos animales se presentan otras variantes de herpesvirus (caps. 33 y 43).

G. Poxvirus

Son virus grandes, de forma ovoide o de ladrillo, de 220 a 450 nm de longitud, 140 a 260 nm de ancho y 140 a 260 nm de espesor. La estructura de las partículas es compleja, con una cubierta que contiene lípidos. El genoma es lineal, con cierre covalente, DNA bicatenario y un tamaño de 130 a 375 kbp. Las partículas de poxvirus contienen casi 100 proteínas, lo que incluye muchas con actividad enzimática, como la polimerasa de RNA dependiente de DNA. La replicación ocurre por completo en el citoplasma de la célula. Todos los poxvirus tienden a causar lesiones cutáneas. Algunos son patógenos para seres humanos (varicela, vaccinia, molusco contagioso); otros son patógenos para animales y pueden infectar a los seres humanos (viruela de la vaca, viruela de los simios) (cap. 34).

Revisión rápida de virus que contienen RNA

A. Picornavirus

Virus pequeños (28 a 30 nm), resistentes al éter que muestran simetría cúbica. El genoma de RNA tiene una sola cadena de sentido positivo (puede actuar como el mRNA) y un tamaño de 7.2 a 8.4 kb. Los grupos que infectan seres humanos son enterovirus (poliovirus, coxsackievirus, echovirus), rinovirus (más de 100 serotipos que causan resfriado común) y hepatovirus (hepatitis A). Los rinovirus son lábiles al ácido y tienen una gran densidad; los enterovirus son estables al ácido y tienen menor densidad. Los picornavirus que infectan animales incluyen aquellos que causan la enfermedad de pata-boca del ganado y encefalomiocarditis de roedores (cap. 36).

B. Astrovirus

Son similares en tamaño a los picornavirus (28 a 30 nm) pero las partículas muestran una forma característica de estrella en su superficie. El genoma consiste en mRNA lineal, de sentido positivo y monocatenario con un tamaño de 6.4 a 7.4 kb. Estos virus pueden estar relacionados con gastroenteritis en seres humanos y animales (cap. 37).

C. Calicivirus

Son similares a los picornavirus pero ligeramente más grandes (27 a 40 nm). Las partículas parecen tener depresiones cóncavas en su superficie. El genoma consiste en RNA monocatenario y sentido positivo con un tamaño de 7.4 a 8.3 kb; el virión no tiene envoltura. Un patógeno importante en seres humanos es el virus Norwalk, que causa gastroenteritis aguda epidémica. Otros

agentes causan infecciones en gatos, leones marinos o en primates (cap. 37).

D. Herpesvirus

Son similares a los calicivirus y las partículas son pequeñas (27 a 34 nm) y resistentes al éter. El genoma consiste en RNA monocatenario, de sentido positivo con un tamaño de 7.2 kb. El virus de la hepatitis E pertenece a este grupo (cap. 35).

E. Reovirus

Son virus de tamaño medio (60 a 80 nm), resistentes al éter y sin envoltura, con simetría icosaédrica. Las partículas tienen dos o tres cubiertas proteínicas con conductos que se extienden de la superficie al centro del virus; proyecciones cortas se extienden desde la superficie del virión. El genoma consiste en RNA lineal, bicatenario, segmentado (10 a 12 segmentos), con un tamaño total de 16 a 27 kbp. Los segmentos individuales de RNA varían en tamaño de 680 a 3 900 pares de bases. La replicación ocurre en el citoplasma; la redisposición de segmentos del genoma ocurre con facilidad. Los reovirus de seres humanos incluyen rotavirus, con su aspecto característico en forma de rueda y que causa gastroenteritis. Los reovirus con similitud antigénica causan infección en varios animales. El género *Coltivirus* incluye al virus de la fiebre por picadura de garrapata de Colorado en seres humanos (cap. 37).

F. Arbovirus

Son un grupo ecológico de virus (no una familia de virus) con diversas propiedades físicas y químicas. Todos los virus de este grupo (que incluye más de 350) tienen ciclos complejos que comprenden artrópodos como vectores que transmiten el virus a hospedadores vertebrados por medio de una picadura. La replicación viral no parece dañar al artrópodo infectado. Los arbovirus infectan a seres humanos, mamíferos, aves y serpientes y utilizan como vectores a mosquitos y garrapatas. Las enfermedades en seres humanos incluyen dengue, fiebre amarilla, encefalitis viral y otras enfermedades. Los arbovirus pertenecen a varias familias de virus, lo que incluye togavirus, flavivirus, bunyavirus, rabdovirus, arenavirus y reovirus (cap. 38).

G. Togavirus

Muchos arbovirus que son patógenos importantes en seres humanos se denominan alfavirus (p. ej., el virus de la rubéola) y pertenecen a este grupo. Tienen una cubierta que contiene lípidos, son sensibles al éter y su genoma está compuesto por RNA monocatenario de sentido positivo con un tamaño de 9.7 a 11.8 kb. El virión cubierto mide 70 nm. Las partículas virales maduran por gemación a partir de las membranas de la célula hospedadora. Un ejemplo es el virus de la encefalitis equina oriental. El virus de la rubéola no tiene un artrópodo como vector (caps. 38 y 40).

H. Flavivirus

Son virus envueltos, con un diámetro de 40 a 60 nm y que contienen RNA de sentido positivo, monocatenario. El tamaño del genoma varía de 9.5 kb (hepatitis C) a 11 kb (flavivirus) o 12.5 kb (pestivirus). Los viriones maduros se acumulan en cisternas del retículo endoplásmico. Este grupo de arbovirus incluye el virus de la fiebre amarilla y del dengue. La mayor parte de estos virus se transmiten por artrópodos en macrófagos. El virus de la hepatitis C no tiene vector conocido (caps. 35 y 38).

I. Arenavirus

Son virus pleomórficos, con envoltura, que varían en tamaño de 50 a 300 nm (promedio, 110 a 130 nm). El genoma consiste en RNA segmentado, circular y monocatenario con sentido negativo y de doble sentido y un tamaño total de 10 a 14 kb. La replicación ocurre en el citoplasma con el ensamble a través de gemación en la membrana citoplásmica. Los viriones se incorporan en los ribosomas de la célula hospedadora durante la maduración, lo que les da un aspecto "arenoso". La mayor parte de los miembros de esta familia suelen encontrarse en la América tropical (p. ej., complejo Tacaribe). Todos los arenavirus patógenos para los seres humanos causan infecciones crónicas en roedores. El virus de la fiebre Lassa de África es un ejemplo. Estos virus requieren condiciones de contención máxima en el laboratorio (cap. 38).

J. Coronavirus

Son partículas envueltas de 120 a 160 nm de diámetro que contienen genoma no segmentado de sentido positivo con RNA monocatenario y un tamaño de 27 a 32 kb; la nucleocápside es helicoidal con un diámetro de 9 a 11 nm. Los coronavirus son similares a los ortomixovirus, pero tienen proyecciones de superficie en forma de pétalos dispuestos como flecos, similar a una corona solar. La nucleocápside de los coronavirus se desarrolla en el citoplasma y madura por gemación hacia vesículas citoplásmicas. Tales virus afectan a una reducida gama de hospedadores. En la mayor parte de los seres humanos los coronavirus causan enfermedad respiratoria aguda leve ("resfriados") pero los nuevos coronavirus identificados en 2003 causan síndrome de insuficiencia respiratoria aguda grave (SARS, *severe acute respiratory syndrome*). Los torovirus que causan gastroenteritis son un género distinto de virus. Los coronavirus de animales causan con facilidad infecciones persistentes e incluyen hepatitis viral y bronquitis infecciosa aviar viral (cap. 41).

K. Retrovirus

Son virus esféricos, cubiertos (80 a 110 nm de diámetro) cuyo genoma contiene dos copias de RNA lineal, de sentido positivo, monocatenario con la misma polaridad que el mRNA viral. Cada monómero de RNA tiene un tamaño de 7 a 11 kb. Las partículas contienen una nucleocápside helicoidal con cápside de icosaédrica. La replicación es singular; el virión contiene la enzima transcriptasa inversa que produce una copia de DNA a partir del genoma formado por RNA. Este DNA adquiere forma circular y se integra en el DNA cromosómico del hospedador. El virus se replica a partir de un "provirus" integrado a la copia de DNA. El ensamble del virión ocurre por gemación en las membranas plasmáticas. El hospedador sufre infección crónica. Los retrovirus tienen distribución amplia; también existen provirus endógenos como consecuencia de infecciones antiguas de células germinativas transmitidas como genes hereditarios en la mayor parte de las especies. En este grupo se incluyen los virus de la leucemia y sarcoma de animales y seres humanos (cap. 43), los virus espumosos de primates y los lentivirus (virus de la inmunodeficiencia humana; visna en ovejas) (caps. 42 y 44). Los retrovirus causan síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) (cap. 44) y hacen posible la identificación de oncogenes celulares (cap. 43).

L. Ortomixovirus

Son virus con envoltura de tamaño mediano (80 a 120 nm) que muestran simetría helicoidal. Las partículas son redondas o filamentosas con proyecciones superficiales que contienen actividad de hemaglutinina o neuraminidasa. El genoma consiste en RNA lineal, segmentado, de sentido negativo y monocatenario con un tamaño de 10 a 13.6 kb. Los segmentos varían de 900 a 2 350 nucleótidos cada uno. La hélice de la nucleoproteína interna mide 9 a 15 nm. Durante la replicación la nucleocápside se ensambla en el núcleo, en tanto que la hemaglutinina y neuraminidasa se acumulan en el citoplasma. El virus maduro causa gemación en la membrana celular. Todos los ortomixovirus son virus de la influenza que infectan a los seres humanos o animales. La naturaleza segmentada del genoma viral permite el fácil arreglo genético cuando dos virus de la influenza infectan la misma célula, tal vez acelerando la alta tasa de variación natural entre los virus de la influenza. La transmisión a partir de otras especies explica el surgimiento de las nuevas cepas de virus A de la influenza que causan pandemias en seres humanos (cap. 39).

M. Bunyavirus

Partículas esféricas o pleomórficas, cubiertas, de 80 a 120 nm. El genoma está constituido por RNA trisegmentado, circular, monocatenario y de sentido negativo o de ambos sentidos, con un tamaño general de 11 a 19 kb. Las partículas del virión contienen tres nucleocápsides circulares, con simetría helicoidal de casi 2.5 nm de diámetro y una longitud de 200 a 3 000 nm. La replicación se lleva a cabo en el citoplasma y la cubierta se adquiere por gemación en el aparato de Golgi. La mayor parte de los virus se transmiten a vertebrados por medio de artrópodos (arbovirus). Los hantavirus no se transmiten a través de artrópodos, pero causan infección persistente en roedores a través de aerosoles de excretas contaminadas. Causan fiebre hemorrágica y nefropatía así como síndrome pulmonar grave (cap. 38).

N. Bornavirus

Son virus esféricos (80 a 125 nm) con envoltura. El genoma consiste en RNA lineal, monocatenario, no segmentado y de sentido negativo con un tamaño de 8.5 a 10.5 kb. Una característica singular entre los RNAvirus no segmentados, de sentido negativo es que la replicación y transcripción del genoma viral ocurre en el núcleo. El virus de la enfermedad de Borna es neurotrópico en animales y se ha postulado una posible asociación con trastornos neuropsiquiátricos en seres humanos, que no se ha demostrado (cap. 42).

O. Rabdovirus

Los viriones con envoltura tienen forma de una bala, planos en un extremo y redondeados en el otro, con tamaño de casi 75 × 180 nm. La cubierta tiene espículas de 10 nanómetros. El genoma consiste en RNA lineal, monocatenario, no segmentado y de sentido negativo con un tamaño de 13 a 16 kb. Las partículas se forman por gemación a partir de la membrana celular. Los virus tienen una amplia gama de hospedadores. El virus de la rabia pertenece a este grupo (cap. 42).

P. Paramixovirus

Son similares a los ortomixovirus, pero más grandes (150 a 300 nm). Las partículas son pleomórficas. La nucleocápside interna mide 13 a 18 nm y el genoma consiste en RNA lineal, monocatenario, no segmentado y de sentido negativo con un tamaño de 16 a 20 kb. La nucleocápside y la hemaglutinina se forman en el citoplasma. Aquellos que producen infección en seres humanos incluyen los virus de parotiditis, sarampión, parainfluenza y sincitial respiratorio. Tales virus tienen una gama estrecha de hospedadores. A diferencia de los virus de la influenza, los paramixovirus son estables desde el punto de vista genético (cap. 40).

Q. Filovirus

Son virus pleomórficos con envoltura que pueden tener un aspecto muy largo, "como si estuvieran enhebrados". Por lo común tienen 80 nm de ancho y casi 1 000 nm de longitud. La cubierta contiene peplómeros. El genoma consiste en RNA lineal, de sentido negativo, monocatenario con un tamaño de 19 kb. Los virus Ébola y Marburg causan fiebre hemorrágica grave en África. Estos virus requieren medidas intensivas de contención (nivel 4 de bioseguridad) para su manipulación (cap. 38).

R. Otros virus

La falta de información no permite su clasificación. Esto aplica a algunos virus que causan gastroenteritis (cap. 37).

S. Viroides

Pequeños agentes infecciosos que causan enfermedades de plantas. Los viroides son agentes que no satisfacen la definición clásica de virus. Son moléculas de ácido nucleico (PM de 70 000 a 120 000) sin una cubierta proteínica. Los viroides de plantas son moléculas de RNA monocatenario, circulares con cierre covalente y formados por casi 360 nucleótidos, con una estructura con aspecto de bastón por el alto apareamiento de base. Los viroides se replican por un mecanismo completamente novedoso. Los viroides de RNA no codifican un producto proteínico; las enfermedades devastadoras en plantas inducidas por viroides ocurren por mecanismos desconocidos. A la fecha se han detectado viroides sólo en plantas; no se ha demostrado su existencia en animales o seres humanos.

T. Priones

Son partículas infecciosas compuestas únicamente por proteínas sin ácido nucleico detectable. Son muy resistentes a la inactivación por calor, formaldehído y luz ultravioleta, los cuales inactivan a los virus. Las proteínas del prión están codificadas por un gen celular único. Las enfermedades por priones, denominadas "encefalopatías espongiformes transmisibles", lo que incluye la tembladera de ovejas, la enfermedad de las vacas locas en el ganado y kuru y enfermedad de Creutzfeldt-Jakob en seres humanos. Los priones no parecen ser virus (cap. 42).

PRINCIPIOS DE LA ESTRUCTURA VIRAL

Los virus se presentan en muchas formas y tamaños. Es necesaria la información estructural para la clasificación de los virus y para establecer relaciones entre la estructura y la función de proteínas virales. Las características estructurales particulares de cada familia de virus depende de las funciones del virión: morfogénesis y liberación a partir de células infectadas; transmisión a nuevos hospedadores y unión, penetración y pérdida de la cubierta de

células recién infectadas. El conocimiento de la estructura viral incrementa la comprensión de los mecanismos de ciertos procesos, como la interacción de partículas virales con los receptores de superficie celular y neutralización por anticuerpos. Puede llevar también al diseño racional de fármacos antivíricos capaces de bloquear la unión viral, eliminar la cubierta viral o el ensamble en células susceptibles.

Tipos de simetría de las partículas virales

La microscopia electrónica, microscopia por crioelectrones y las técnicas de difracción con rayos X han hecho posible resolver diferencias finas en la morfología básica de los virus. El estudio de la simetría viral con microscopia electrónica estándar requiere el uso de tinciones con metales pesados (p. ej., fosfotungstato de potasio) para hacer énfasis en las estructuras de superficie. Los metales pesados permean la partícula viral como una nube y hacen evidentes estructuras superficiales en virtud de la "tinción negativa". El nivel típico de resolución es de 3 a 4 nm (el tamaño del DNA de doble hélice es de 2 nm). Sin embargo, los métodos convencionales de preparación de muestras a menudo causan distorsiones y cambios en la morfología de la partícula. La microscopia crioelectrónica utiliza muestras virales con congelamiento rápido en hielo vítreo; se conservan las características estructurales finas y se evita el uso de colorantes negativos. Puede obtenerse información de la estructura tridimensional con el uso de procedimientos de procesamiento de imágenes por computadora. Los ejemplos de reconstrucciones de imágenes de partículas virales se muestran en los siguientes capítulos (caps. 32 y 37).

La cristalografía con rayos X puede proporcionar información con resolución al nivel atómico, por lo general al nivel de 0.2 a 0.3 nm. La muestra debe ser cristalina y esto sólo se logra con virus pequeños, sin envoltura. Sin embargo, es posible obtener datos estructurales de alta resolución sobre estructuras bien definidas preparadas con virus más complejos.

La economía genética requiere que la estructura viral se construya a partir de moléculas idénticas producidas con unas cuantas proteínas. La estructura viral puede agruparse en tres tipos, con base en la disposición de sus subunidades morfológicas: 1) simetría cúbica, por ejemplo, adenovirus; 2) simetría helicoidal, por ejemplo, ortomixovirus y 3) estructuras complejas, por ejemplo poxvirus.

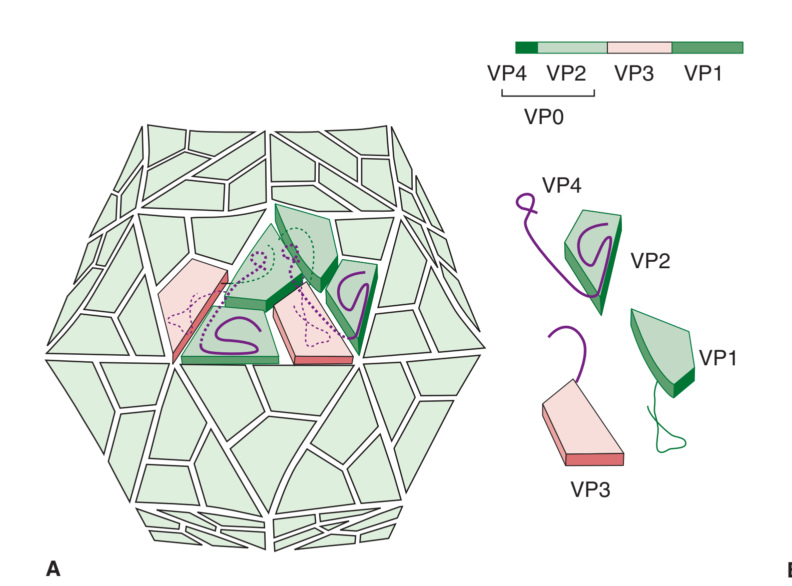
A. Simetría cúbica

Toda la simetría cúbica observada en virus animales tiene un patrón icosaédrico; la disposición más eficiente para subunidades es una cubierta cerrada. El icosaedro tiene 20 caras (cada una con forma de triángulo equilátero), 12 vértices y con 5, 3 y dos ejes de simetría de rotación. El vértice de las unidades tiene cinco estructuras vecinas (pentavalente) en tanto que otras tienen seis (hexavalente).

Hay exactamente 60 subunidades idénticas en la superficie de un icosaedro. Con el fin de construir una partícula de tamaño adecuado para cubrir el genoma viral, las cápsides virales están compuestas por múltiples unidades estructurales de 60 subunidades. El uso de números más grandes de subunidades de proteínas idénticas desde el punto de vista químico, pese a que mantiene las reglas de simetría icosaédrica, se logra por la subtriangulación de cada cara de un icosaedro. En la figura 29-2 se muestra una revisión general del mecanismo de unión de subunidades en un picornavirus.

La mayor parte de los virus que tienen simetría icosaédrica no tienen forma de icosaedro, más bien tienen aspecto de una partícula esférica.

El ácido nucleico viral se condensa en partículas isométricas; las proteínas del centro codificadas por el virus (o en el caso de los poliomavirus y virus del papiloma, histonas celulares)



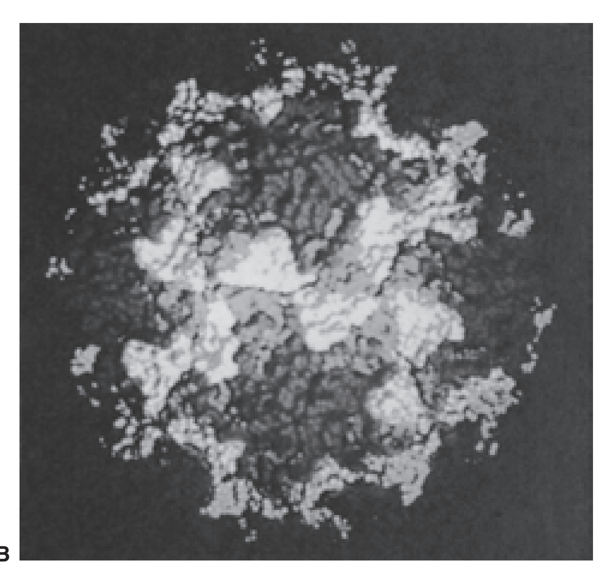


FIGURA 29-2 **A:** Revisión general del empacado de subunidades en picornavirus. Las proteínas CT se obtienen por degradación a partir de un precursor, como se ilustra. VP1-VP3 se representan como bloques en forma de cuña (dominios de cápside viral de barril β) con extensiones amino y carboxilo terminal. Las extensiones amino terminal interactúan para dar origen al marco interno. VP4 es parte de la extensión amino terminal de VP0. En el poliovirus y en el rinovirus, la porción GH prominente del asa de VP1 se encuentra a través de VP2 y VP3, como se ilustra. En el lado derecho se muestra un protómero "separado". **B:** Aspecto de la superficie de un poliovirus en la misma orientación que se muestra en la imagen A. (Reproducida con autorización de Harrison SC, Skehell JJ, Wiley DC: Virus structure. En *Fields Virology,* 3rd ed. Fields BN et al [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

participan en la condensación de los ácidos nucleicos en forma adecuada para empacarse. Las "secuencias de embalaje" de los ácidos nucleicos virales están relacionadas con el ensamble para la formación de partículas virales. Hay limitantes de tamaño en las moléculas de ácido nucleico que pueden almacenarse en una cápside icosaédrica dada. Las cápsides icosaédricas se forman de manera independiente del ácido nucleico. La mayor parte de las preparaciones de virus isométricos contienen algunas partículas "vacías", que carecen de ácidos nucleicos virales. La expresión de proteínas de la cápside a partir de genes clonados a menudo ocasiona el ensamble y formación de partículas "virales" sin contenido de ácidos nucleicos. Los grupos virales con DNA o RNA son ejemplos de simetría cúbica.

B. Simetría helicoidal

En casos de simetría helicoidal, las subunidades proteínicas se unen en forma periódica al ácido nucleico viral, dando origen a una hélice. El complejo filamentoso ácido nucleico-proteínas virales (nucleocápside) se enrolla en el interior de una envoltura que contiene lípidos. Así, como no ocurre con estructuras icosaédricas, hay una interacción regular, periódica, entre las proteínas de la cápside y los ácidos nucleicos en virus con simetría helicoidal. No es posible que se formen partículas helicoidales "vacías".

Todos los ejemplos conocidos de virus animales con simetría helicoidal contienen genoma de RNA y, con excepción de los rabdovirus, tienen nucleocápsides flexibles con envolturas en el interior de las cuales se forma un ovillo (figs. 29-1B, 29-3 y 42-1).

C. Estructuras complejas

Algunas partículas virales no muestran simetría cúbica o helicoidal simples, sino que presentan estructuras más complicadas. Por ejemplo, los poxvirus tienen forma de ladrillo con bordes en la superficie externa y un núcleo y cuerpos laterales en su interior (figs. 29-3 y 34-1).

Medición del tamaño de los virus

Los atributos clásicos de los virus incluyen su tamaño pequeño y la capacidad de pasar a través de filtros que retienen bacterias. Sin embargo, como algunas bacterias podrían ser más pequeñas que el virus más grande, la filtración no es una característica singular de los virus.

La observación directa en el microscopio electrónico es el método utilizado con mayor frecuencia para calcular el tamaño de una partícula. Los virus pueden observarse en preparaciones de extractos hísticos y en cortes ultradelgados de células infectadas. Otro método que puede utilizarse es la sedimentación en ultracentrífuga. En una ultracentrífuga, pueden utilizarse fuerzas de más de 100 000 veces la gravedad para desplazar las partículas al fondo del tubo. Las relaciones entre el tamaño y la forma de la partícula y su tasa de sedimentación permiten calcular el tamaño de la partícula.

A. Mediciones comparativas

Véase el cuadro 29-1. Con fines de referencia, deben recordarse los siguientes datos: 1) *Staphylococcus* tienen un diámetro de casi 1 000 nm. 2) Los virus bacterianos (bacteriófagos) tienen tamaño variable (10 a 100 nm). Algunos son esféricos o hexagonales y tienen colas cortas o largas. 3) Las moléculas proteínicas representativas varían en diámetro desde el tamaño de la albúmina sérica (5 nm) y globulinas (7 nm) hasta ciertas hemocianinas (23 nm).

Los tamaños relativos y la morfología de varias familias de virus se muestran en la figura 29-3. Las partículas con el doble de diámetro tienen una diferencia de ocho veces en cuanto al volumen. Así, la masa de un poxvirus es casi 1 000 veces más grande que la de la partícula del poliovirus, en tanto que la masa de una bacteria pequeña es 50 000 veces más grande.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS VIRUS

Proteínas virales

Las proteínas estructurales de los virus tienen varias funciones importantes. Su principal objetivo es facilitar la transferencia de ácidos nucleicos virales de una célula hospedadora a otra. Sirven para proteger el genoma viral contra la inactivación por las nucleasas, participan en la unión de la partícula viral a las células susceptibles y proporcionan la simetría estructural de la partícula viral.

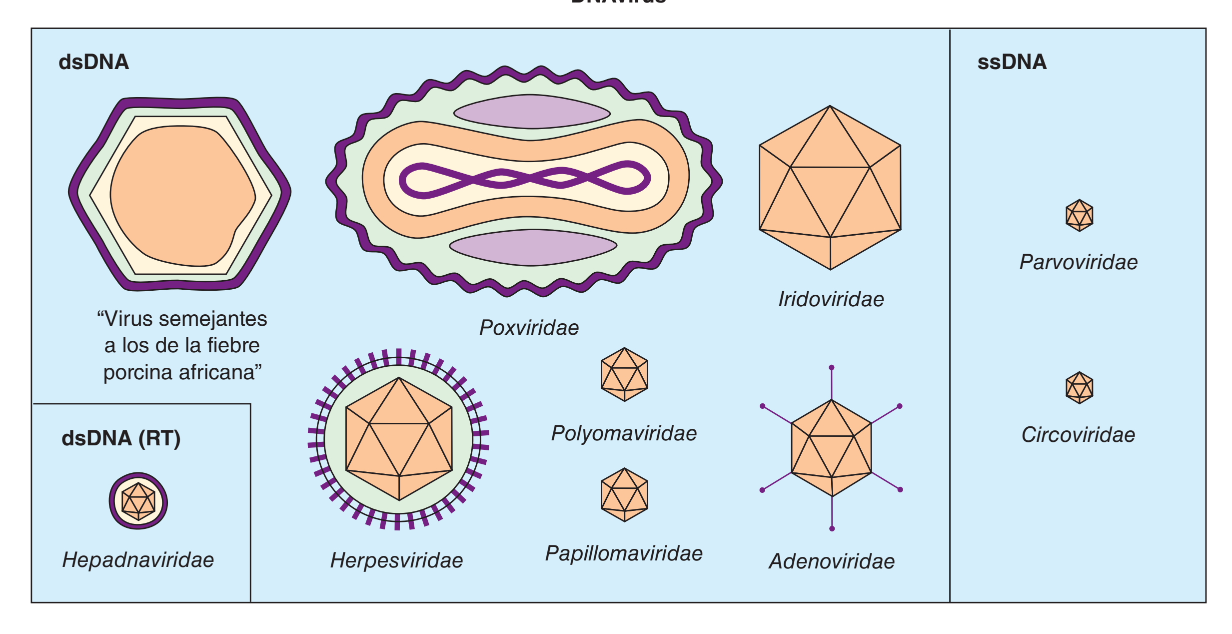
Las proteínas determinan las características antigénicas del virus. Los mecanismos de respuesta inmunitaria protectora del hospedador se dirigen contra determinantes antigénicos de las proteínas o glucoproteínas expuestas en la superficie de la partícula viral. Algunas proteínas de superficie pueden mostrar actividad específica, por ejemplo, la hemaglutinina del virus de la influenza produce la aglutinación de eritrocitos.

Algunos virus portan enzimas (proteínas) en el interior de los viriones. Tales enzimas se presentan en cantidades muy pequeñas y probablemente no son importantes en la estructura de las partículas virales; sin embargo, son esenciales para el inicio del ciclo de replicación viral cuando el virión entra en la célula del hospedador. Algunos ejemplos incluyen la polimerasa de RNA que portan los virus con genomas con RNA de sentido negativo (p. ej., ortomixovirus, rabdovirus) y que es necesaria para copiar el primer mRNA, así como la transcriptasa inversa, una enzima presente en los retrovirus que producen una copia de DNA a partir del RNA viral, un paso esencial en la replicación y transformación. En el extremo opuesto en este sentido se encuentran los poxvirus, cuyos centros contienen un sistema de transcripción; muchas enzimas diferentes se encuentran agrupadas en las partículas de poxvirus.

Ácido nucleico viral

Los virus contienen un solo tipo de ácido nucleico (ya sea DNA o RNA) que codifica la información genética necesaria para la replicación de los virus. El genoma puede ser monocatenario o bicatenario, circular o lineal, segmentado o no segmentado. El tipo de ácido nucleico, el número de cadenas y su tamaño son las principales características utilizadas para clasificar los virus en las familias (cuadro 29-1).

El tamaño del DNA del genoma viral varía de 3.2 kbp (hepadnavirus) a 375 kbp (poxvirus). El tamaño del RNA del genoma viral varía de casi 7 kb (algunos picornavirus y astrovirus) a 30 kb (coronavirus).



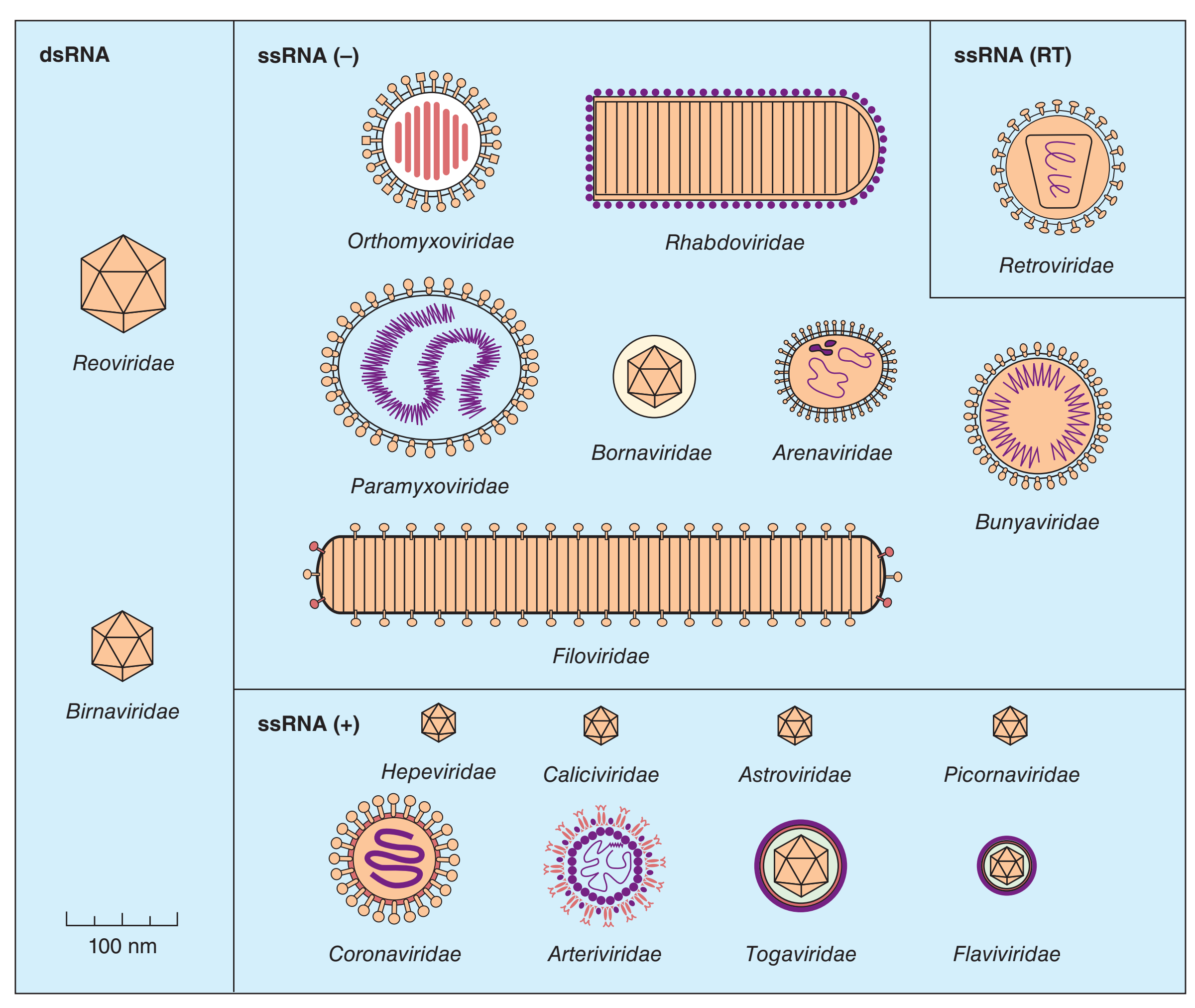


FIGURA 29-3 Formas y tamaños relativos de las familias de virus de animales que infectan vertebrados. En algunos diagramas se representan ciertas estructuras internas de las partículas. Sólo se incluyen aquellas familias que son patógenas para los seres humanos y se enumeran en el cuadro 29-1 y se describen en el texto. (Reproducida con autorización de van Regenmortel MHV et al [editors]: Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses. Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, 2000.)

Todos los grupos de DNAvirus que se muestran en el cuadro 29-1 tienen genomas con una sola molécula de DNA y tienen configuración lineal o circular.

El RNA viral existe en varias formas. El RNA puede ser una molécula lineal única (p. ej., picornavirus). Para otros virus (p. ej., ortomixovirus), el genoma consiste en varios segmentos de RNA que pueden tener poca asociación en el virión. El RNA viral aislado con genomas de sentido positivo (picornavirus, togavirus) es infeccioso y la molécula funciona como mRNA en la célula infectada. El RNA aislado de un RNAvirus de sentido negativo, como los rabdovirus y ortomixovirus, no es infeccioso. Para estas familias virales el virión porta la polimerasa de RNA que en la célula produce la transcripción de las moléculas de RNA genómico en moléculas de RNA complementario, cada una de las cuales actúa como mRNA.

La secuencia y composición de los nucleótidos de cada ácido nucleico viral son característicos. Muchos genomas virales han sido secuenciados. Las secuencias pueden revelar relaciones genéticas en las moléculas aisladas, lo que incluye relaciones inesperadas entre virus que no parecían tener relación estrecha. El número de genes en un virus puede calcularse a partir de lecturas de marcos abiertos que se reducen a partir de la secuencia de ácidos nucleicos.

Los ácidos nucleicos virales pueden caracterizarse por su contenido de G + C. Los genomas virales pueden analizarse y compararse utilizando endonucleasas de restricción, enzimas que rompen el DNA en secuencias específicas de nucleótidos. Cada genoma da origen a patrones característicos de fragmentos de DNA después del desdoblamiento con una enzima en particular. Utilizando copias clonadas de DNA o RNA, pueden derivarse mapas de restricción a partir de genomas de RNA viral. Los análisis de reacción en cadena de polimerasa y las técnicas de hibridación molecular (DNA con DNA, DNA con RNA o RNA con RNA) permiten el estudio de la transcripción de genoma viral en células infectadas así como la comparación de la relación de diferentes virus.

Envolturas lipídicas de los virus

Varios virus diferentes contienen envolturas lipídicas como parte de su estructura. Los lípidos se adquieren cuando la nucleocápside viral forma vesículas a través de la membrana celular en el trayecto de su maduración. La gemación ocurre sólo en sitios donde se han insertado proteínas virales específicas en la membrana de la célula hospedadora. El proceso de gemación varía de manera notable dependiendo de la estrategia de replicación del virus y de la estructura de la nucleocápside. En la figura 29-4 se muestra el mecanismo de gemación del virus de la influenza.

La composición específica de fosfolípidos de la envoltura del virión depende del tipo específico de membrana celular que participó en el proceso de gemación. Por ejemplo, el herpesvirus crea yemas a través de la membrana nuclear de la célula hospedadora y la composición de fosfolípidos del virus purificado refleja el contenido de lípidos de la membrana nuclear. La adquisición de una membrana con lípidos es un paso integral en la morfogénesis del virión en algunos grupos virales (véase Replicación de los virus, más adelante).

Siempre hay proteínas virales glucosiladas que protruyen a través de la envoltura y exponen la superficie externa de la partícula viral. Hay proteínas no glucosiladas de origen viral por debajo de la envoltura que mantienen unida a la partícula.

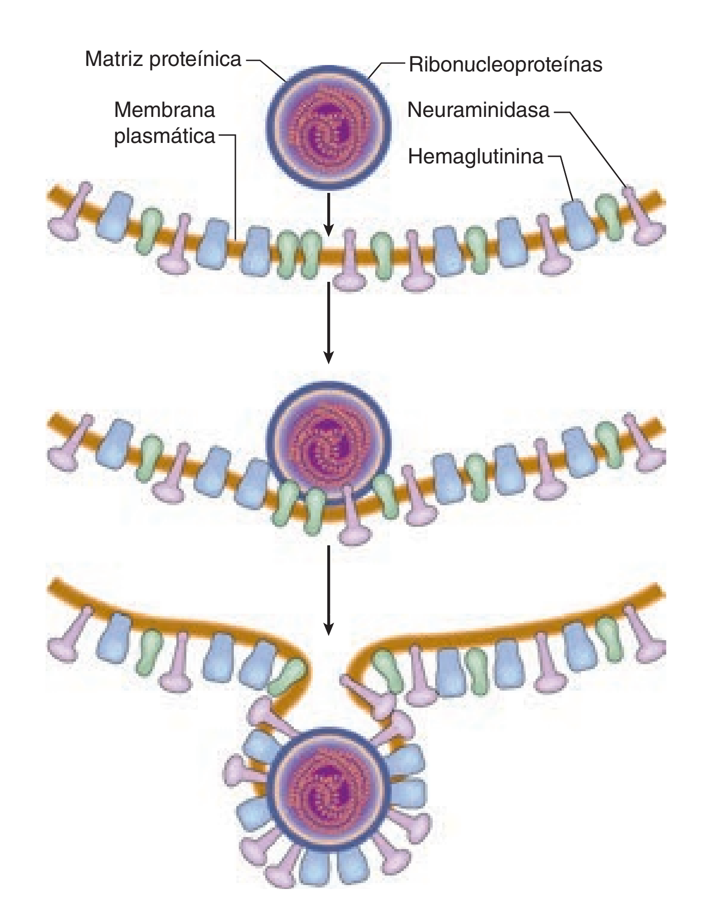


FIGURA 29-4 Liberación del virus de la influenza por gemación de la membrana plasmática. En primer lugar, las proteínas de la envoltura viral (hemaglutinina y neuraminidasa) se insertan en la membrana plasmática del hospedador. Más tarde la nucleocápside se acerca a la superficie interna de la membrana y se une a ella. Al mismo tiempo se acumulan proteínas virales en el sitio y se excluyen las proteínas de membrana del hospedador. Por último se forma una protuberancia en la membrana plasmática para formar de manera simultánea la envoltura viral y liberar el virión maduro. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology,* 7th Ed. McGraw-Hill, 2008.)

Los virus que contienen lípidos son sensibles al tratamiento con éter y con otros solventes orgánicos (cuadro 29-1), lo que indica la pérdida de los lípidos que da origen a la pérdida de la capacidad de infección. Los virus que no contienen lípidos suelen ser resistentes al éter.

Glucoproteínas virales

Las envolturas virales contienen glucoproteínas. A diferencia de los lípidos en las membranas virales, que se derivan de las células del hospedador, las envolturas de glucoproteínas son codificadas por el virus. Sin embargo, los carbohidratos añadidos a las glucoproteínas virales a menudo son reflejo de la célula hospedadora en la cual creció el virus.

Son las glucoproteínas de superficie de un virus envuelto las que unen a la partícula viral con la célula hospedadora al interactuar con el receptor celular. A menudo participan en la fusión de la membrana como una etapa de la infección. Las glucoproteínas también son antígenos virales importantes. Como consecuencia de su posición en la superficie externa del virión, con fre-

cuencia participan en la interacción de la partícula viral con los anticuerpos neutralizantes. La glucosilación amplia de las proteínas de la superficie viral puede evitar la neutralización eficaz de la partícula viral por anticuerpos específicos. Las estructuras tridimensionales de las regiones con exposición externa de las glucoproteínas de membrana del virus de la influenza (hemaglutininas, neuraminidasa) se han analizado con cristalografía con rayos X (fig. 39-2). Tales estudios proporcionan información con respecto a la estructura antihigiénica y actividad funcional de las glucoproteínas virales.

CULTIVO Y ANÁLISIS VIRALES

Cultivos de virus

Muchos virus pueden crecer en cultivos celulares o en huevos fértiles bajo condiciones estrictamente controladas. El crecimiento de virus en animales aún se utiliza con fines de aislamiento primario para ciertos virus y para estudios de patogenia de enfermedades virales y de oncogénesis viral. Los diagnósticos de laboratorio intentan recuperar virus de muestras clínicas para establecer las causas de la enfermedad (cap. 47). Los laboratorios de investigación cultivan virus como la base para el análisis detallado de la expresión y replicación virales.

El desarrollo en células *in vitro* es fundamental para el cultivo e identificación de virus. Hay tres tipos básicos de cultivos celulares. Los cultivos primarios se elaboran mediante la dispersión de células (por lo común con tripsina) a partir de tejidos frescos extirpados del hospedador. En términos generales, son incapaces de crecer después de unos cuantos intercambios entre medios de cultivo. Las líneas celulares diploides son cultivos secundarios que han sufrido un cambio que permite su cultivo limitado (hasta 50 intercambios) pero que conservan su patrón cromosómico normal. Las líneas celulares continuas son cultivos capaces de crecimiento más prolongado (quizá indefinido) y que se han derivado de líneas celulares diploides o de tejidos malignos. En forma invariable, tienen cromosomas alterados y en números irregulares. El tipo de cultivo celular utilizado para cultivo viral depende de la sensibilidad de las células a un virus en particular.

A. Detección de las células infectadas con virus

La multiplicación de un virus puede vigilarse en diversas formas:

1. Desarrollo de efectos idiopáticos, es decir, cambios morfológicos en las células. Los tipos de efectos idiopáticos inducidos por virus incluyen lisis o necrosis celular, formación de cuerpos de inclusión, formación de células gigantes y vacuolización del citoplasma (fig. 29-5A, B y C). La mayor parte de los virus produce un efecto citopático obvio en células infectadas.
2. Aspecto de las proteínas codificadas por el virus, como la hemaglutinina del virus de la influenza. Pueden utilizarse antisueros específicos para detectar la síntesis de proteínas virales en células infectadas.
3. La detección de ácidos nucleicos virales específicos. Los análisis moleculares como la reacción en cadena de polimerasa proporcionan un método rápido, sensible y específico para la detección.
4. Adsorción de eritrocitos por las células infectadas, lo que se conoce como hemadsorción, por la presencia de hemaglutinina codificada por el virus (virus de parainfluenza, influenza) en membranas celulares. Esta reacción se torna positiva antes que se observen cambios citopáticos y en algunos casos ocurre en ausencia de efectos citopáticos (fig. 29-5D).
5. El crecimiento de virus en embriones de pollo puede ocasionar la muerte del embrión (p. ej., virus de la encefalitis), la producción de placas en la membrana corioalantoidea (p. ej., herpes, viruela, vaccinia) o el desarrollo de hemaglutininas en los líquidos o tejidos embrionarios (p. ej., influenza).

B. Formación de cuerpos de inclusión

En el curso de la multiplicación viral en las células, pueden producirse estructuras virales específicas conocidas como cuerpos de inclusión. A menudo se tornan más grandes que las partículas virales individuales y por lo común tienen afinidad por colorantes ácidos (p. ej., eosina). Pueden ubicarse en el núcleo (herpesvirus; fig. 33-3), en el citoplasma (poxvirus) o en ambos (virus del sarampión; fig. 40-5). En muchas infecciones virales, los cuerpos

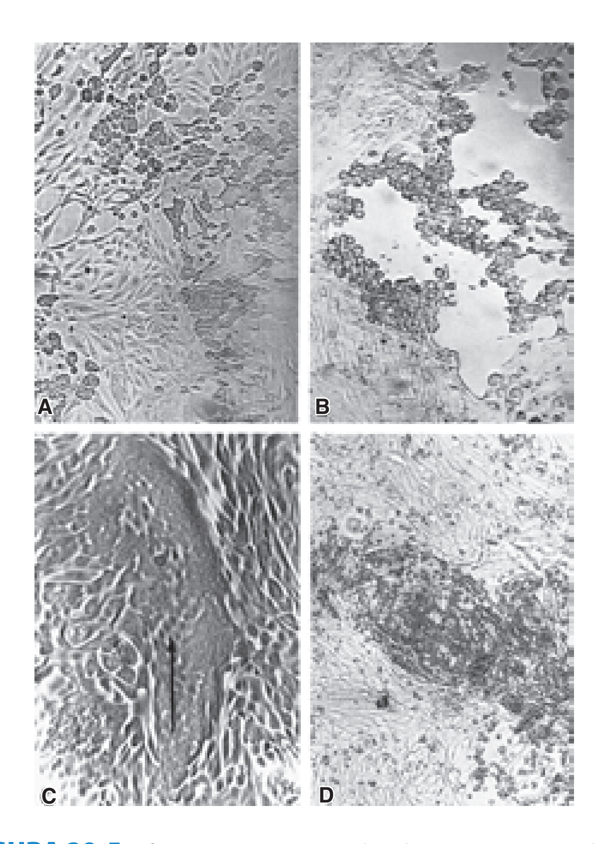


FIGURA 29-5 Efectos citopáticos producidos en monocapas de células cultivadas con virus diferentes. Los cultivos se muestran como se perciben en forma normal en el laboratorio, sin fijación y sin tinción (×60). **A:** Enterovirus, las células que adquieren con rapidez aspecto redondeado de las células, que progresa a la destrucción celular completa. **B:** Herpesvirus, con áreas focales de células redondeadas hinchadas. **C:** Paramixovirus, áreas focales con células fusionadas (sincitio). **D:** Hemadsorción. Los eritrocitos se adhieren a aquellas células en la monocapa que están infectadas por el virus que causa que la hemaglutinina se incorpore en la membrana plasmática. Muchos virus envueltos que maduran por gemación de membrana citoplásmica producen hemadsorción. (Utilizada con autorización de I. Jack.)

de inclusión son el sitio de desarrollo de viriones (fábricas de virus). Las variaciones en el aspecto del material de inclusión dependen en gran medida del fijador hístico utilizado.

La presencia de cuerpos de inclusión puede ser un auxiliar diagnóstico considerable. Los cuerpos de inclusión intercitoplásmicos en células nerviosas (cuerpos de Negri) son patognomónicos de la rabia.

Cuantificación de los virus

A. Métodos físicos

Los análisis que se basan en la cuantificación de ácidos nucleicos, como la reacción en cadena de polimerasa pueden cuantificar el número de copias de genoma viral en una muestra. Se detectan genomas infecciosos y no infecciosos. La variación en la secuencia viral puede reducir la detección de virus y la cuantificación con el empleo de este método.

Diversas pruebas serológicas, como el radioinmunoanálisis (RIA) y los enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA; cap. 47) pueden estandarizarse para cuantificar la cantidad de virus en la muestra. Tales pruebas no diferencian partículas infecciosas o no infecciosas y en ocasiones detectan proteínas virales no ensambladas en partículas.

Ciertos virus contienen una proteína (hemaglutinina) que tiene la capacidad de producir la aglutinación de eritrocitos humanos o de alguna otra especie animal. Los análisis de hemaglutinación son un método fácil y rápido de cuantificación de estos tipos de virus (cap. 47). Las partículas infecciosas y no infecciosas son positivas en esta reacción; por lo tanto, mediante la hemaglutinación es posible medir la cantidad total de virus presentes.

Las partículas virales pueden contarse directamente en la microscopia electrónica mediante la comparación con una suspensión estándar de partículas de látex de un tamaño similar. Sin embargo, para este procedimiento es necesario utilizar preparaciones concentradas de virus y las partículas virales infecciosas no pueden diferenciarse de las no infecciosas.

B. Métodos biológicos

Los criterios de valoración de los estudios biológicos dependen de la medición de la muerte animal, infección animal o efectos citopáticos en cultivos de tejidos en diluciones seriadas del virus estudiado. Los títulos se expresan como 50% de la dosis infecciosa (ID_{50}), que es el recíproco de la dilución de virus que produce un efecto en 50% de las células o animales inoculados. El análisis preciso requiere el uso de grandes números de sujetos estudiados.

El análisis en placa es el utilizado más a menudo para virus infecciosos. Las monocapas de células hospedadoras se inoculan con diluciones apropiadas de virus y después de la adsorción son cubiertas con un medio que contiene agar o carboximetilcelulosa para evitar la diseminación del virus a todo el cultivo. Después de varios días, las células infectadas al inicio producen virus que se diseminan sólo a las células circundantes. Múltiples ciclos de replicación y destrucción celulares producen un área pequeña de infección (placa). La duración del tiempo desde la infección a la formación de placas depende del ciclo de replicación del virus y puede variar desde unos cuantos días (p. ej., poliovirus) a dos semanas o más (p. ej., SV40). Bajo condiciones controladas, puede originarse una placa única a partir de una partícula viral infecciosa, lo que se conoce como unidad formadora de placa (PFU). El efecto citopático de la célula infectada en la placa puede diferenciarse de las células no infectadas de la monocapa con o sin una tinción apropiada y por lo común las placas pueden contarse a simple vista. La razón del número de partículas infecciosas con el número total de partículas virales varía ampliamente, desde una cifra cercana a la unidad hasta menos de uno por 1 000, pero a menudo es de uno por varios cientos.

Ciertos virus, como el herpesvirus y vaccinia forman cavidades cuando se inoculan en la membrana corioalantoidea en un huevo en etapa embrionaria. Tales virus se cuantifican con base en el número de cavidades contadas contra la dilución de virus inoculados.

PURIFICACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE VIRUS

Purificación de partículas virales

Debe contarse con virus puros a fin de estudiar ciertos tipos de propiedades y aspectos de biología molecular del agente. Para estudios de purificación, el material inicial por lo común utiliza grandes volúmenes de medios de cultivo de tejidos, líquidos corporales o células infectadas. El primer paso por lo general incluye la concentración de partículas virales mediante la precipitación con sulfato de amonio, etanol o polietilenglicol o bien por ultrafiltración. La hemaglutinación y elución pueden utilizarse para concentrar ortomixovirus (cap. 39). Una vez que se han concentrado, los virus pueden separarse del material del hospedador por centrifugación diferencial, centrifugación por gradiente de densidad, cromatografía de columnas y electroforesis.

Por lo común se necesita más de un paso para lograr la purificación adecuada. La purificación preliminar elimina la mayor parte de material no viral. El primer paso puede incluir la centrifugación; el paso final de purificación casi siempre incluye centrifugación por gradiente de densidad. En la centrifugación por tasa zonal, se aplica una muestra de virus concentrados en un gradiente de densidad lineal preestablecido en sacarosa o glicerol; durante la centrifugación los virus se sedimentan en forma de una banda a una tasa que depende principalmente del tamaño y peso de la partícula viral.

Los virus también pueden purificarse por centrifugación de alta velocidad en gradiente de densidad en cloruro de cesio, tartrato de potasio, citrato de potasio o sacarosa. El material elegido para el gradiente es uno de los menos tóxicos para el virus. Las partículas virales migran hacia una posición de equilibrio donde la densidad de la solución sea igual a su densidad boyante, con la formación de una banda visible.

Algunos métodos adicionales para la purificación se basan en las propiedades químicas de la superficie viral. En la cromatografía de columna el virus se une a una sustancia como dietilaminoetilo o fosfocelulosa y más tarde se despega por cambios en el pH o en la concentración de sales. La electroforesis de zona permite la separación de las partículas virales de los contaminantes con base en la carga. Pueden utilizarse antisueros específicos para eliminar partículas virales de los materiales del hospedador.

Los virus icosaédricos son más fáciles de purificar que los virus envueltos, porque estos últimos por lo común contienen can-

tidades variables de envoltura por partícula y porque la población viral es heterogénea tanto en tamaño como en densidad.

Es muy difícil lograr la pureza completa de los virus. Pequeñas cantidades de material celular tienden a adsorberse a partículas y se purifican en forma simultánea. Los criterios mínimos para la pureza son un aspecto homogéneo en las micrografías electrónicas y la incapacidad de procedimientos de purificación adicional para eliminar "contaminantes" sin reducir la capacidad de producir infecciones.

Identificación de una partícula como virus

Cuando se ha obtenido una partícula con características físicas, debe satisfacer los criterios siguientes antes de que sea identificada como partícula viral:

1. La partícula puede obtenerse sólo de tres células o tejidos infectados.
2. Las partículas obtenidas de diversas fuentes son idénticas sin importar el origen celular en el cual se cultivó el virus.
3. Las partículas contienen ácidos nucleicos (DNA o RNA) y la secuencia de tales ácidos no es la misma que la de las células hospedadoras, a partir de las cuales se obtuvieron las partículas.
4. El grado de actividad infecciosa de la preparación varía directamente con el número de partículas presentes.
5. La destrucción de la partícula física por medios químicos o físicos se asocia con pérdida de la actividad viral.
6. Ciertas propiedades de las partículas y la infectividad deben ser idénticas, por ejemplo, su conducta de sedimentación en la ultracentrifugación y curvas de estabilidad al pH.
7. Los antisueros preparados contra el virus infeccioso deben producir una reacción con la partícula característica y viceversa. La observación directa de un virus desconocido puede llevarse a cabo mediante estudio con microscopia electrónica de la formación de agregados en una mezcla de antisuero y suspensión de virus.
8. Las partículas son capaces de producir la enfermedad característica *in vivo* (cuando tales experimentos sean factibles).
9. El paso de partículas en cultivos de tejidos debe ocasionar la producción de progenie con propiedades biológicas y antigénicas de virus.

SEGURIDAD EN EL LABORATORIO

Muchos virus son patógenos para los seres humanos y pueden ocurrir infecciones adquiridas en el laboratorio. Los procedimientos de laboratorio a menudo son potencialmente peligrosos si no se sigue la técnica apropiada. Entre los peligros comunes que exponen al personal de laboratorio al riesgo de infección se encuentran: 1) aerosoles, generados por la homogeneización de tejidos infectados, procedimientos de centrifugación, vibración ultrasónica y rotura de cristalería; 2) ingestión: durante la manipulación de pipetas con la boca, consumo de alimentos o fumar en el laboratorio, lavado inadecuado de manos; 3) penetración cutánea por agujas, cristalería rota, contaminación de manos por fuga de los contenedores, manipulación de tejidos infectados, mordeduras por animales, y 4) salpicaduras en los ojos.

Las buenas prácticas de bioseguridad incluyen: 1) capacitación en el uso de técnicas asépticas; 2) uso de dispositivos interpuestos entre la boca y la pipeta; 3) no consumir alimentos, bebidas ni fumar en el laboratorio; 4) uso de equipo de protección personal (batas, guantes, cubrebocas, etc.), los cuales no deben ser utilizados fuera del laboratorio; 5) esterilización de los desechos de experimentación; 6) uso de campanas de bioseguridad, y 7) inmunización si se dispone de las vacunas apropiadas. Se requieren precauciones adicionales e instalaciones para contención especial cuando el personal trabaja con agentes de alto riesgo como filovirus (cap. 38) y virus de la rabia (nivel 4 de bioseguridad).

REACCIÓN A LOS AGENTES FÍSICOS Y QUÍMICOS

Calor y frío

Existe una gran variabilidad en la estabilidad térmica de los diferentes virus. Los virus icosaédricos tienden a ser estables, perdiendo poca infectividad después de varias horas a 37°C. Los virus con envoltura son mucho más lábiles al calor, disminuyendo con rapidez sus títulos a 37°C. En términos generales la infectividad de los virus se destruye por temperaturas de 50 a 60°C por 30 min, aunque existen excepciones notables (p. ej., virus de la hepatitis B, poliomavirus).

Los virus pueden conservarse por almacenamiento a temperaturas por debajo del punto de congelación y algunos pueden soportar la liofilización y pueden conservarse en estado seco a 4°C o incluso a temperatura ambiental. Los virus que soportan la liofilización son más resistentes al calor cuando se calientan en estado seco. Los virus con envoltura tienden a perder infectividad después de almacenamiento prolongado incluso a temperaturas de –90°C y son en particular sensibles al congelamiento y descongelamiento repetidos.

Estabilización de virus con sales

Muchos virus pueden estabilizarse en la presencia de sales en concentraciones de 1 mol/L, es decir, los virus no sufren inactivación incluso a temperaturas de 50°C por 1 h. Se desconoce el mecanismo por el cual la sales estabilizan las preparaciones de virus. Los virus presentan estabilización preferencial por ciertas sales. Por ejemplo, el $MgCl_2$ en concentraciones de 1 mol/L, estabiliza los picornavirus y reovirus; el $MgSO_4$ en concentraciones de 1 mol/L estabiliza los ortomixovirus y paramixovirus en tanto que el Na_2SO_4 en concentración de 1 mol/L estabiliza al herpesvirus.

La estabilidad de los virus es importante en la preparación de vacunas. La vacuna oral de poliovirus ordinaria, no estabilizada debe almacenarse a temperaturas de congelamiento para conservar su potencia. Sin embargo, con la adición de sales para estabilización del virus, la potencia puede mantenerse por semanas a temperatura ambiental incluso en las altas temperaturas que se encuentran en los trópicos.

pH

Los virus por lo común son estables con pH de entre 5.0 y 9.0. Algunos de ellos (p. ej., enterovirus) son resistentes a las condiciones ácidas. Todos los virus se destruyen en un entorno alcali-

no. En las reacciones de hemaglutinación, las variaciones de pH de menos de una unidad pueden influir en el resultado.

Radiación

La radiación ultravioleta, de rayos X, y con partículas de alta energía inactivan a los virus. Las dosis varían para los diferentes virus. La infectividad es la propiedad más radiosensible porque la replicación requiere la expresión de la totalidad del contenido genético. Las partículas radiadas que son incapaces de replicarse pueden expresar algunas funciones específicas en la célula del hospedador.

Susceptibilidad al éter

La susceptibilidad al éter puede utilizarse para diferenciar a los virus que poseen una envoltura de aquellos que no la poseen. En el cuadro 29-1 se muestra la sensibilidad al éter de diferentes grupos de virus.

Detergentes

Los detergentes no iónicos (p. ej., nonil fenoxilpolietoxiletanol y octoxinol-9) solubilizan los componentes lipídicos de las membranas virales. Las proteínas virales de la envoltura se liberan (sin desnaturalización). Los detergentes aniónicos, por ejemplo, sulfato dodecílico sódico, también solubilizan las envolturas virales; además, pueden romper las cápsides en polipéptidos separados.

Formaldehído

El formaldehído destruye la infectividad viral al reaccionar con los ácidos nucleicos. Los virus con genomas monocatenarios sufren inactivación con mucha mayor rapidez que los bicatenarios. El formaldehído tiene mínimos efectos adversos en la antigenicidad de proteínas y por tanto se utiliza con frecuencia en la producción de vacunas de virus desactivados.

Inactivación fotodinámica

Los virus pueden ser penetrados en grados variables por colorantes como el azul de toluidina, rojo neutro y proflavina. Tales colorantes se unen a los ácidos nucleicos virales y el virus se vuelve susceptible a la inactivación por acción de la luz visible. El rojo neutro se utiliza a menudo para teñir placas de análisis, de forma que se observen con mayor facilidad las placas. Dichas placas deben protegerse de la luz intensa una vez que se ha añadido el rojo neutro; existe el riesgo de que la progenie del virus se desactive y se interrumpa el desarrollo de la placa.

Antibióticos y otros agentes antibacterianos

Los antibióticos antibacterianos y las sulfonamidas no tienen efectos en los virus. Sin embargo, se cuenta con algunos fármacos antivirales (cap. 30).

En términos generales, los compuestos de amonio cuaternario no son eficaces contra los virus. Los compuestos de yodo orgánico también son ineficaces. Para destruir virus se necesitan concentraciones más altas de cloro que las necesarias para destruir bacterias, en especial en presencia de proteínas extrañas. Por ejemplo, el tratamiento con cloro de las heces es adecuado para desactivar los bacilos de la tifoidea pero es inadecuado para destruir el virus de la poliomielitis presente en heces. Los alcoholes como el isopropanol y etanol son relativamente ineficaces contra ciertos virus, en especial picornavirus.

Métodos comunes para la inactivación de virus con diversos propósitos

Los virus pueden desactivarse por varias razones: para esterilizar equipo y suministros de laboratorio, desinfectar superficies cutáneas, potabilizar el agua y producir vacunas de virus desactivados. Con estos propósitos se utilizan diferentes métodos y sustancias químicas.

La esterilización puede lograrse con vapor a presión, calor seco, óxido de etileno y radiación de rayos gamma. Los desinfectantes de superficies incluyen hipoclorito de sodio, glutaraldehído, formaldehído y ácido peracético. Los desinfectantes cutáneos incluyen clorhexidina, etanol al 70% y yodóforos. La producción de vacunas puede incluir el uso de formaldehído, propiolactona-β, soralenos + radiación ultravioleta o detergentes (subunidades de vacunas) para la desactivación de virus vacunales.

REPLICACIÓN DE LOS VIRUS: GENERALIDADES

Los virus se multiplican solamente en células vivas. Las células del hospedador deben proporcionar la energía y la maquinaria de síntesis, así como precursores de bajo peso molecular para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos virales. El ácido nucleico viral transporta especificidad genética al código para todas las macromoléculas específicas de virus en una forma altamente organizada.

A fin de que se pueda replicar el virus, deben sintetizarse las proteínas virales por la maquinaria de síntesis de proteínas de la célula hospedadora. Por tanto, el genoma viral debe ser capaz de producir mRNA que pueda utilizarse. Se han identificado varios mecanismos que permiten que el mRNA viral compita con éxito con el mRNA celular para producir cantidades adecuadas de proteínas virales.

La característica singular de la multiplicación viral es que, poco después de la interacción con las células hospedadoras, el virión infectante se desintegra y se pierde su capacidad infecciosa mensurable. Esta fase del ciclo celular se denomina **periodo de eclipse**; su duración depende del virus en particular y de la célula hospedadora y se continúa por un intervalo de acumulación rápida de una progenie de partículas virales infecciosas. El periodo de eclipse es en realidad una de las fases de actividad de síntesis más intensa porque la célula se redirecciona para satisfacer las necesidades del “pirata viral”. En algunos casos, poco después de que el ácido nucleico penetra a la célula hospedadora, el metabolismo celular se dirige exclusivamente a la síntesis de nuevas partículas virales y la célula se destruye. En otros casos, el proceso metabólico de la célula hospedadora no se altera de manera significativa, aunque la célula produzca proteínas y ácidos nucleicos virales y las células no sufren destrucción.

Después de la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas virales, se ensamblan los componentes para dar origen a nuevos viriones infecciosos. La producción de virus infecciosos por célula varía ampliamente, desde cifras moderadas hasta más de 100 000 partículas. La duración del ciclo de replicación viral es muy variable, de 6 a 8 h (picornavirus) a más de 40 h (algunos herpesvirus).

No todas las infecciones dan origen a una nueva progenie de virus. Las infecciones **productivas** ocurren en células **permisivas** y dan origen a la producción de virus infecciosos. Las infecciones **abortivas** no producen una progenie infecciosa, porque las células podrían ser **no permisivas** e incapaces de sostener la expresión de genes virales o porque los virus infecciosos pueden ser **defectuosos** por la carencia de algún gen viral funcional. Puede sobrevenir una infección **latente**, con la persistencia de genomas virales con la expresión de pocos o ningún genes virales y la supervivencia de la célula infectada. El patrón de replicación puede variar para un virus dado, lo que depende del tipo de célula hospedadora infectada.

Etapas generales en los ciclos de replicación viral

Han surgido diversas estrategias virales para lograr la multiplicación de la célula hospedadora parasitada. Aunque los detalles varían de un grupo a otro, en términos generales, el ciclo de replicación es similar. Los ciclos de crecimiento para los DNAvirus bicatenario y para RNAvirus monocatenarios de sentido positivo se esquematizan en la figura 29-6. En los siguientes capítulos se muestran detalles dirigidos a grupos virales específicos.

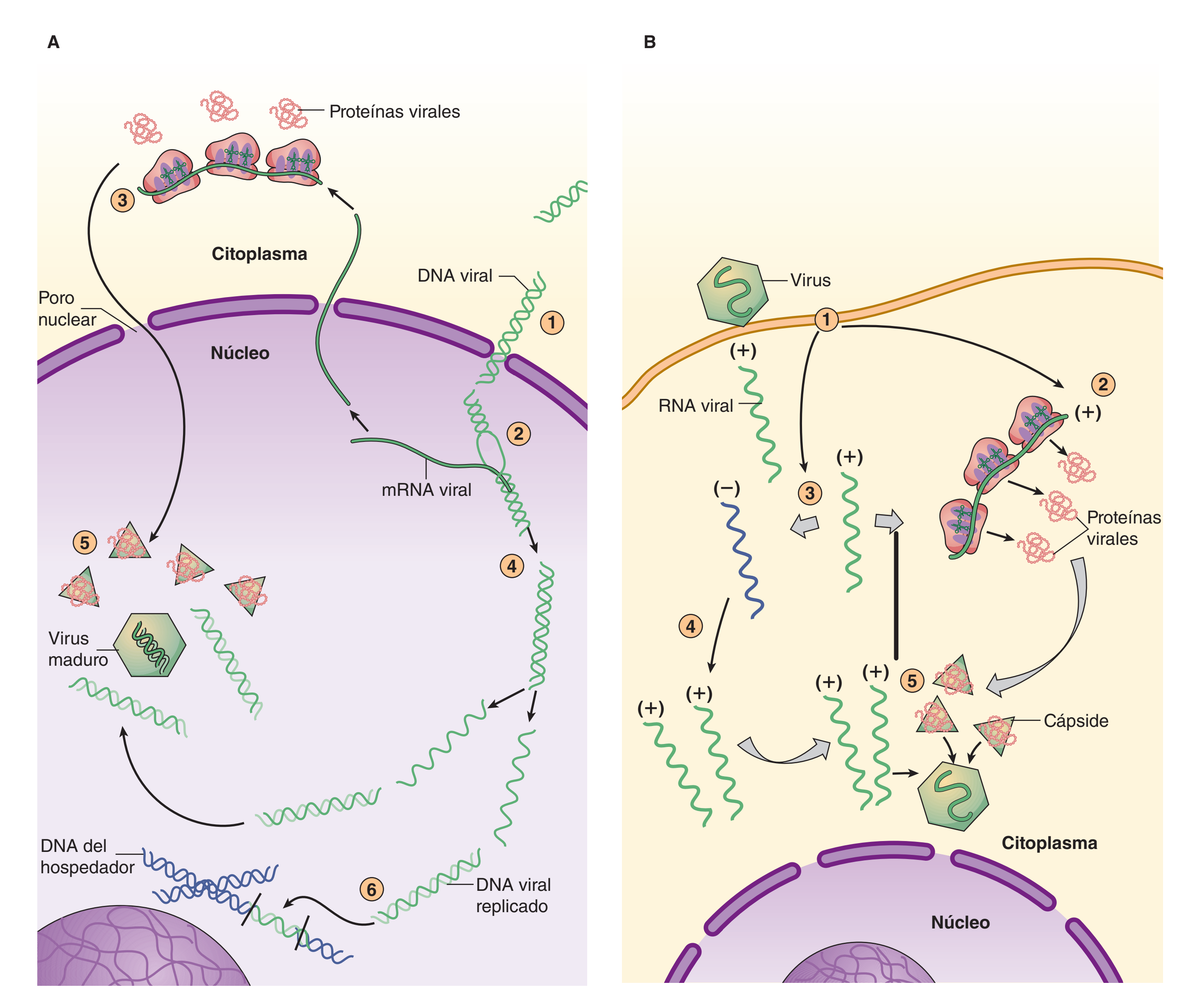


FIGURA 29-6 Ejemplos de ciclos de proliferación viral. **A:** Ciclo de proliferación de un DNAvirus sin envoltura y bicatenario. **B:** Ciclo de proliferación del RNAvirus monocatenario y de sentido positivo. (Reproducida con autorización de Talaro KP: *Foundations in Microbiology*: *Basic Principles*, 6th ed. McGraw-Hill, 2008.)

A. Unión, penetración y pérdida de la envoltura

El primer paso en la infección viral es la **unión**, es decir, la interacción del virión con un sitio receptor específico en la superficie de la célula. Las moléculas receptoras difieren para los distintos virus, pero en términos generales son glucoproteínas. En algunos casos los virus se unen a secuencias proteínicas (p. ej., picornavirus) y en otros casos con oligosacáridos (p. ej., ortomixovirus y paramixovirus). Al parecer la unión al receptor refleja una homología conformacional fortuita entre la estructura superficial del virión y componentes superficiales de la célula. Por ejemplo, el virus de la inmunodeficiencia humana se une a receptores CD4 que se encuentran en células del sistema inmunitario, los rinovirus se unen a ICAM-1 y el virus de Epstein-Barr reconoce los receptores CD21 en las células B. La presencia o ausencia de receptores desempeña una función determinante en el tropismo celular y en la patogenia del virus. No todas las células en un hospedador susceptible expresan los receptores necesarios; por ejemplo, el poliovirus es capaz de unirse sólo a las células del sistema nervioso central y del tubo digestivo de primates. Cada célula susceptible puede contener hasta 100 000 sitios receptores para un virus dado. El paso de unión puede iniciar cambios estructurales irreversibles en el virión.

Después de la unión la partícula viral se introduce al interior de la célula, etapa que se conoce como **penetración** o englobamiento. En algunos sistemas esto se logra por endocitosis mediada por receptores, con la captación de partículas virales ingeridas en el interior de endosomas. Existen ejemplos de penetración directa de partículas virales a través de la membrana plasmática. En otros casos, hay fusión de la envoltura del virión con la membrana plasmática celular. Esos sistemas implican la interacción de las proteínas de función viral con un segundo receptor celular o “correceptor” (p. ej., receptores de quimiocinas para virus de la inmunodeficiencia humana).

La **pérdida de la envoltura** ocurre en forma simultánea o poco después de la penetración. La pérdida de la envoltura consiste en la separación física del ácido nucleico viral de los componentes estructurales externos del virión de forma que pueda cumplir con su función. El genoma puede liberarse en forma de ácido nucleico libre (picornavirus) o como nucleocápside (reovirus). La nucleocápside por lo común contiene polimerasas. Para la pérdida de la envoltura puede ser necesario un entorno ácido que se encuentra presente en el interior del endosoma. La infectividad del virus original se pierde al perder la envoltura. Los virus son los únicos agentes infecciosos para los cuales la desintegración del agente infeccioso es un paso obligado en la vía de replicación.

B. Expresión de los genomas virales y síntesis de componentes virales

La fase de síntesis del ciclo de replicación viral sobreviene después de la pérdida de la envoltura del genoma viral. El tema esencial en la replicación viral es que debe transcribirse un mRNA específico a partir de ácido nucleico viral para la expresión exitosa y la duplicación de la información genética. Una vez que esto se logra, los virus utilizan componentes celulares para la traducción del mRNA. Diferentes clases de virus utilizan diversas vías para la síntesis de mRNA, lo que depende de la estructura del ácido nucleico viral. En el cuadro 29-2 se resumen diversas vías de transcripción (no necesariamente de replicación) de los ácidos nucleicos de diferentes clases de virus. Algunos virus (p. ej., rabdovirus) portan polimerasa de RNA para la síntesis de mRNA. Los RNAvirus de este tipo se denominan virus de cadena negativa (sentido negativo) porque su genoma de RNA monocatenario es complementario al mRNA, el cual se designa en forma convencional como cadena positiva (sentido positivo). Los virus de cadena negativa pueden contar con su propia polimerasa de RNA, porque las células eucariotas carecen de enzimas capaces de sintetizar mRNA a partir de una plantilla de RNA.

En el curso de la replicación de los virus, todas las macromoléculas específicas de virus se sintetizan en una secuencia muy organizada. En algunas infecciones virales, sobre todo en aquellas con virus que contienen DNA bicatenario, las proteínas virales iniciales se sintetizan poco después de la infección en tanto que las proteínas tardías se elaboran son etapas avanzadas de la infección, después de la síntesis del DNA viral. Los genes iniciales podrían no ser desactivados cuando se elaboran los productos tardíos. Por el contrario, la mayor parte o toda la información genética de los virus que contienen RNA se expresa al mismo tiempo. Además de estos controles temporales, existen controles cuantitativos, porque no todas las proteínas virales se elaboran en la misma cantidad. Las proteínas virales específicas pueden regular la extensión de la transcripción del genoma o la traducción del mRNA viral.

Los virus animales pequeños y los bacteriófagos son buenos modelos para estudios de expresión de genes. Las secuencias totales de nucleótidos de muchos virus deben dilucidarse. Esto condujo al descubrimiento de genes sobrepuestos en algunas secuencias en el DNA que se utilizan para la síntesis de dos péptidos diferentes, ya sea con el uso de dos marcos de lectura diferentes o por dos moléculas de mRNA que utilizan el mismo marco de lectura pero diferentes puntos de inicio. Un sistema viral (adenovirus) reveló por primera vez el fenómeno de procesamiento de mRNA que se denomina “empalme” en el cual las secuencias de mRNA que codifican una proteína dada se generan a partir de secuencias separadas en la plantilla, con secuencias no codificantes que son eliminadas del transcrito. En fechas recientes, se encontró que varios DNAvirus (herpesvirus, adenovirus, poliomavirus) codificaban microRNA; estos RNA pequeños (alrededor de 22 nucleótidos) funcionan como un nuevo nivel de regulación de genes postranscripcionales, ya sea mediante la degradación del mRNA al que va dirigido o al inducir la inhibición de la traducción de dichos mRNA.

La variación más amplia en las estrategias de expresión génica se encuentra entre los virus que contienen RNA (cuadro 29-3). Algunos viriones portan polimerasas (ortomixovirus, reovirus); algunos sistemas utilizan mensajes subgenómicos, que en ocasiones son generados por empalme (ortomixovirus, retrovirus) y algunos virus sintetizan grandes precursores poliproteínicos que son procesados y desdoblados para generar los productos génicos finales (picornavirus, retrovirus). La proteasa viral de los virus de la inmunodeficiencia humana es inhibida por la clase de fármacos antivirales denominados inhibidores de la proteasa.

El grado en el cual enzimas virales específicas participan en estos procesos varía de un grupo a otro. Los DNAvirus que se replican en el núcleo por lo general utilizan el DNA de la célula hospedadora y la polimerasa de RNA y procesamiento por enzimas. Los virus más grandes (herpesvirus, poxvirus) son más independientes de las funciones celulares que los virus más pequeños. Esta es una de las razones por la cual los virus gran-

CUADRO 29-2 Vías para la transcripción de ácido nucleico para varios virus clásicos

Tipo de ácido nucleico viral	Intermediarios	Tipo de mRNA	Ejemplo	Comentarios
ds DNA ±	Ninguno	mRNA+	La mayor parte de los DNAvirus (p. ej., herpesvirus, adenovirus)	
ss DNA +	DNA ± ds	mRNA+	Parvovirus	
ds RNA ±	Ninguno	mRNA+	Reovirus	El virión contiene polimerasa de RNA que transcribe cada segmento a mRNA
ss RNA +	DNA ± ds	mRNA+	Picornavirus, togavirus, flavivirus	El ácido nucleico viral es infeccioso y actúa como el mRNA. Para togavirus, el mRNA + más pequeño también se forma para ciertas proteínas
ss RNA –	Ninguno	mRNA+	Rabdovirus, paramixovirus, ortomixovirus	El ácido nucleico viral no es infeccioso; el virión contiene polimerasa de RNA que forma mRNA + más pequeño que el genoma. Para los ortomixovirus, el mRNA + se transcribe a partir de cada segmento
ss RNA +	DNA– , DNA ±	mRNA+	Retrovirus	El virión contiene transcriptasa inversa; el RNA viral no es infeccioso, pero con DNA complementario de células transformadas, sí lo es

– Indica cadena negativa; + indica cadena positiva; ± indica que la hélice contiene una cadena positiva y una negativa; ds, bicatenario; ss, monocatenario.

CUADRO 29-3 Comparación de las estrategias de replicación de varias familias de RNAvirus importantes

	Agrupamiento con base en el RNA genómico[a]					
	Virus de cadena positiva			Virus de cadena negativa		Virus bicatenario
Característica	Picornaviridae	Togaviridae	Retroviridae	Orthomyxoviridae	Paramyxoviridae y Rhabdoviridae	Reoviridae
Estructura del RNA genómico	ss	ss	ss	ss	ss	ds
Sentido del RNA genómico	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
Genoma segmentado	0	0	0[b]	+	0	+
RNA genómico infeccioso	+	+	0	0	0	0
El RNA genómico actúa como mensajero	+	+	+	0	0	0
Polimerasa relacionada con el virión	0	0	+[c]	+	+	+
Mensajes subgenómicos	0	+	+	+	+	+
Poliproteínas precursoras	+	+	+	0	0	0

[a]+, la propiedad indicada aplica a la familia de virus; 0, indica que la propiedad no aplica a dicha familia de virus; ds, bicatenario; negativa, complementaria al mRNA; positiva, el mismo sentido que mRNA; ss, monocatenario.

[b]Los retrovirus contienen genoma diploide (dos copias de RNA genómico no segmentado).

[c]Los retrovirus contienen una transcriptasa inversa (polimerasa de DNA dependiente de RNA).

des son más susceptibles a la quimioterapia antiviral (cap. 30), porque más procesos virales específicos están disponibles como objetivo para la acción farmacológica.

Los sitios intracelulares donde toman lugar los diferentes eventos en la replicación viral varían de un grupo a otro (cuadro 29-4). Es posible realizar pocas generalizaciones. Las proteínas virales se sintetizan en el citoplasma en polirribosomas compuestos por el mRNA viral específico y ribosomas de las células del hospedador. Muchas proteínas virales sufren modificaciones (glucosilación, acilación, desdoblamiento, etc.). El DNA viral por lo común se replica en el núcleo. El RNA del genoma viral suele duplicarse en el citoplasma de la célula, aunque hay excepciones.

C. Morfogénesis y liberación

Los genomas virales recién sintetizados y los polipéptidos de la cápside se ensamblan para dar origen a la progenie de los virus. Las cápsides icosaédricas pueden condensarse en ausencia de ácido nucleico, en tanto que las de virus con simetría helicoidal no pueden formarse sin el RNA viral. En términos generales, los virus sin envoltura se acumulan en las células infectadas y las células finalmente se destruyen y liberan partículas virales.

Los virus envueltos maduran por un proceso de gemación. Las glucoproteínas de la envoltura codificada por los virus se insertan en las membranas celulares; las nucleocápsides virales forman yemas a través de la membrana y en estos sitios modificados adquieren una envoltura. Con frecuencia ocurre gemación al nivel de la membrana plasmática pero también pueden participar otras membranas celulares. Los virus envueltos no son infecciosos hasta que han adquirido su envoltura. Por tanto, la progenie de virus infecciosos por lo común no se acumula en el interior de la célula infectada.

La maduración viral en ocasiones es un proceso ineficaz. Pueden acumularse componentes virales en cantidades excesivas y dar origen a la formación de cuerpos de inclusión en la célula. Como consecuencia de los profundos efectos nocivos de la replicación viral, finalmente surgen efectos citopáticos y la célula muere. Sin embargo, en ocasiones las células no se dañan por acción de los virus y surgen infecciones persistentes a largo plazo (cap. 30). Los mecanismos inducidos por los virus pueden regular la apoptosis, un evento programado genéticamente que permite la autodestrucción de las células. Algunas infecciones virales retrasan la apoptosis temprana, lo que da tiempo para la producción de grandes cantidades de progenie de virus. Además, algunos virus inducen la apoptosis de manera activa en eta-

CUADRO 29-4 Resumen de los ciclos de replicación de las principales familias de virus

Familia de virus	Presencia de virión envuelto	Ubicación intracelular[a]: Replicación del genoma	Formación de nucleocápside[b]	Maduración del virión	Ciclo de multiplicación (h)[c]
DNAvirus					
Parvoviridae	0	N	N	N	
Polyomaviridae	0	N	N	N	48
Adenoviridae	0	N	N	N	25
Hepadnaviridae	+	N	C	M-E	
Herpesviridae	+	N	N	M	15-72
Poxviridae	0	C	C	C	20
RNAvirus					
Picornaviridae	0	C	C	C	6-8
Reoviridae	0	C	C	C	15
Togaviridae	+	C	C	M-P	10-24
Flaviviridae	+	C	C	M-E	
Retroviridae	+	N	C	M-P	
Bunyaviridae	+	C	C	M-G	24
Orthomyxoviridae	+	N	N	M-P	15-30
Paramyxoviridae	+	C	C	M-P	10-48
Rhabdoviridae	+	C	C	M-P	6-10

[a]C, citoplasma; M, membranas; M-E, membranas del retículo endoplásmico; M-G, membranas del aparato de Golgi; M-P, membranas plasmáticas; N, núcleo.

[b]La síntesis de proteínas virales siempre ocurre en el citoplasma.

[c]Las cifras que muestran la duración del ciclo de multiplicación son aproximadas; los intervalos indican que varios miembros en una familia dada se replican con cinética diferente. Los diferentes tipos celulares del hospedador también influyen en la cinética de la replicación viral.

pas avanzadas, lo que facilita la diseminación de la progenie de virus a nuevas células.

GENÉTICA DE LOS VIRUS ANIMALES

El análisis genético es un método poderoso dirigido a la comprensión de la estructura y función del genoma viral, productos génicos y su participación en la infección y enfermedad. La variación en las propiedades virales es de gran importancia para la medicina de seres humanos. Los virus que tienen antígenos estables en su superficie (poliovirus, virus del sarampión) pueden controlarse con vacunación. Otros virus que existen con diversos tipos antigénicos (rinovirus) o que cambian con frecuencia (virus de la influenza A) son difíciles de controlar por vacunación; la genética viral puede ayudar a desarrollar vacunas más eficaces. Algunos tipos de infecciones virales recurren en forma repetitiva (virus de parainfluenza) o producen infecciones persistentes (retrovirus) en presencia de anticuerpos y pueden controlarse mejor con fármacos antivirales. El análisis genético puede ayudar a identificar procesos virales específicos que pueden ser sitios de acción apropiados para el desarrollo de tratamientos antivirales.

Los términos siguientes son básicos para el análisis de los aspectos genéticos: el **genotipo** se refiere la constitución genética de un organismo. El **fenotipo** se refiere a las propiedades observables de un organismo, que puede ser producido por el genotipo en combinación con el medio ambiente. Una **mutación** es un cambio hereditario en el genotipo. El **genoma** es la suma de genes de un organismo y un **virus silvestre** denota el virus original a partir del cual se derivaron mutantes y con el cual se comparan dichos mutantes; el término podría no describir con precisión el virus, como se encuentra aislado en estado natural. Los aislados frescos de virus de hospedadores naturales se conocen como **aislados de campo** o **aislados primarios**.

Mapeo de genomas virales

Las técnicas rápidas y precisas de biología molecular han facilitado la identificación de los productos génicos virales y han permitido el mapeo de éstos en el genoma viral. El mapeo bioquímico y físico puede realizarse con mayor rapidez que el mapeo genético utilizando técnicas genéticas clásicas.

Para aislados que pueden clonarse, el análisis de la secuencia y la comparación con virus conocidos es un método que se utiliza a menudo en lugar de los métodos descritos más adelante para el mapeo del genoma viral.

La técnica de mapeo de rearreglo se ha utilizado con el virus de la influenza A que tiene un genoma de ocho segmentos de RNA, cada uno codificando una proteína viral. En condiciones apropiadas, los segmentos del RNA del genoma y los péptidos de diferentes virus de la influenza A migran a velocidades diferentes en gel de poliacrilamida, de forma que pueden diferenciarse las cepas. Mediante el análisis de las recombinaciones formadas entre diferentes virus de la influenza, puede establecerse el segmento de RNA que codifica cada proteína.

Es posible utilizar endonucleasas de restricción para la identificación de cepas específicas de DNAvirus. El DNA viral se aísla y se incuba con una endonucleasa específica hasta que sufren desdoblamiento las secuencias de DNA susceptibles a la nucleasa. Los fragmentos se identifican con base en el tamaño de la electroforesis en gel. Los fragmentos más grandes presentan mayor retraso por el efecto de tamiz del gel, de forma que existe una relación inversa entre el tamaño y la migración observada. La posición de los fragmentos de DNA puede establecerse por radioautografía o por técnicas de tinción especializadas. Tales técnicas de mapeo físico fueron útiles para diferenciar tipos virales en sistemas en los cuales los virus no podían cultivarse (p. ej., papilomavirus).

Los mapas físicos pueden correlacionarse con los mapas genéticos. Esto permite que los productos génicos virales se mapeen a regiones individuales del genoma, que fue definido por fragmentos de restricción enzimática. La transcripción de mRNA mediante el ciclo de replicación puede asignarse a fragmentos específicos de DNA. Con el uso de mutagénesis pueden introducirse mutaciones en sitios definidos del genoma. Los fragmentos del genoma viral producidos por la reacción en cadena de polimerasa pueden utilizarse en lugar de fragmentos obtenidos por enzimas de restricción para estudios de mapeo y mutagénesis.

Tipos de virus mutantes

Estudios genéticos clásicos con virus animales requieren métodos de análisis cuantitativos sensibles y precisos, como los análisis en placa para la infectividad viral y buenos mutantes (resultados de mutación única) que se califican con facilidad y tienen estabilidad razonable. Algunos marcadores utilizados a menudo incluyen la morfología en placa, escape de anticuerpos o resistencia a antisueros neutralizantes, pérdida de proteínas virales, resistencia farmacológica, hospedadores en los cuales actúa o incapacidad para crecer a temperaturas altas o bajas. Los mutantes con tales marcadores se obtienen luego del tratamiento con un mutágeno, después de ingeniería genética en una mutación por técnicas moleculares o después de mutaciones espontáneas.

Las secuencias virales clonadas se utilizan a menudo para análisis genético molecular. Los genomas de RNAvirus se clonan como copias de cDNA. Esto permite el análisis genético de virus que no pueden cultivarse y de RNAvirus. Pueden introducirse diferentes tipos de mutaciones en sitios precisos en DNA viral clonado para realizar un análisis funcional de las secuencias de codificación y elementos de acción *cis* viral.

Los mutantes mortales condicionados son mutantes que son mortales (en la cual no se producen virus infecciosos) bajo una condición predeterminada (denominada condición no permisiva) pero que dan origen a progenie infecciosa normal bajo otras condiciones (denominada condición permisiva). Los mutantes sensibles a la temperatura proliferan a bajas temperaturas (permisivas) pero no a altas temperaturas (no permisivas). Los mutantes de un solo hospedador son capaces de crecer en un tipo de célula (célula permisiva), en tanto que ocurre una infección abortiva en otro tipo celular (célula no permisiva). Los estudios de infección mixta con pares de mutantes bajo condiciones permisivas y no permisivas pueden dar información con respecto a las funciones del gen y los mecanismos de replicación viral a nivel molecular.

Virus defectuosos

Los virus defectuosos son aquellos que carecen de uno o más genes funcionales necesarios para la replicación viral; requieren

actividad auxiliar de otro virus en algunas etapas de su replicación o maduración.

Un tipo de virus defectuoso carece de una porción de su genoma (p. ej., mutante con deleción). El grado de pérdida por deleción puede variar desde una secuencia corta de bases a una gran cantidad del genoma. Los mutantes con deleción espontánea pueden interferir con la replicación del virus homólogo y se denominan partículas de interferencia viral defectuosa. Las partículas con interferencia viral han perdido en esencia segmentos de genoma, pero contienen proteínas normales de la cápside; requieren infección por un virus homólogo como auxiliador para la replicación e interfieren con la multiplicación del virus homólogo.

Otra categoría de virus defectuoso requiere un virus competente con una replicación no relacionada como colaborador. Algunos ejemplos incluyen los virus satélite adenorrelacionados y el virus de la hepatitis D (agente delta), que se replica sólo en presencia de adenovirus o virus de la hepatitis B coinfectantes, respectivamente. Se han recuperado aislados no defectuosos de este tipo de virus defectuosos. La función esencial del colaborador varía dependiendo del sistema.

Los seudoviriones son un tipo diferente de partícula defectuosa que contiene DNA de la célula hospedadora en lugar de genoma viral. Durante la replicación viral la cápside en ocasiones rodea porciones aleatorias de ácido nucleico del hospedador en lugar del ácido nucleico del virus. Tales partículas tienen el aspecto de partículas virales ordinarias cuando se observan en la microscopia electrónica pero no pueden replicarse. Los seudoviriones en teoría tienen la capacidad de transducir ácido nucleico celular de una célula a otra.

Los retrovirus de transformación suelen ser defectuosos. Una porción del genoma viral ha sufrido deleción y ha sido sustituida con una parte del DNA de la célula original que codifica una proteína de transformación. Tales virus permiten la identificación de oncogenes celulares (cap. 43). Es necesario otro retrovirus como auxiliador a fin de permitir la replicación del virus transformado.

Interacciones entre virus

Cuando dos o más partículas virales infectan la misma célula hospedadora, pueden interactuar en diversas formas. Deben tener una relación suficientemente estrecha y por lo común pertenecen a la misma familia de virus para que ocurra la mayor parte de tipos de interacciones. La interacción genética da origen a cierta progenie que puede tener una herencia diferente a la de la partícula original. La progenie producida como consecuencia de esta interacción no genética es similar a la de los virus que le dieron origen. En la interacción genética existe interacción real entre las moléculas de ácido nucleico, en tanto que los productos génicos participan en interacciones no genéticas.

A. Recombinación

La recombinación da origen a la producción de progenie viral (recombinante) que cuenta con rasgos que no se encuentran en las partículas que le dieron origen. El mecanismo clásico es que las cadenas de ácido nucleico se rompen y parte del genoma de una partícula viral se une con otra parte del genoma del segundo virus. El virus recombinante es estable desde el punto de vista genético dando origen a una progenie durante la replicación. Los virus varían ampliamente en la frecuencia con la cual sufren recombinación. En el caso de virus con genoma segmentado, por ejemplo el virus de la influenza, la formación de recombinación es consecuencia de la predisposición de fragmentos del genoma original más que un evento de intercambio real, y ocurre con facilidad (cap. 39).

B. Complementación

Se refiere a la interacción de productos génicos virales en la célula infectada con dos virus, uno o ambos de los cuales puede ser defectuoso. Tiene como consecuencia la replicación de una o ambas partículas virales bajo condiciones en las cuales no ocurriría replicación en forma ordinaria. Las bases para la complementación es que un virus proporciona un producto génico en el cual el segundo es defectuoso, permitiendo la proliferación del segundo virus. Los genotipos de los dos virus permanecen sin cambio. Si ambos mutantes son defectuosos en el mismo producto génico, no serán capaces de complementar uno el crecimiento del otro.

C. Mezcla fenotípica

Un caso especial de complementación es la mezcla fenotípica o la asociación de un genotipo con un fenotipo heterólogo. Esto ocurre cuando el genoma de un virus se incorpora en forma aleatoria a las proteínas de la cápside especificadas por un virus diferente o la cápside consiste en componentes de ambos virus. Si el genoma es encapsulado en una cubierta de proteína heteróloga complementaria, este ejemplo extremo de mezcla fenotípica puede denominarse "ocultamiento fenotípico" o "transcapsidación". Dicha mezcla no es estable desde el punto de vista genético porque al momento de la replicación la mezcla fenotípica original dará origen a una progenie rodeada por cápsides homólogas al genotipo.

La mezcla fenotípica por lo común ocurre entre diferentes miembros de la misma familia de virus; la cápside con proteínas mezcladas debe ser capaz de interactuar de forma correcta para dar origen a una cápside intacta desde el punto de vista estructural. Sin embargo, también puede ocurrir mezcla fenotípica en virus con envoltura y en este caso los virus no tienen relación estrecha. La nucleocápside de un virus es rodeada por una cubierta específica para otro virus, un fenómeno denominado "formación de seudotipo". Hay muchos ejemplos de formación de seudotipo entre RNAvirus tumorales (cap. 43). La nucleocápside del virus de la estomatitis vesicular, un rabdovirus, tiene la propensión poco común de formar seudotipos con material de envoltura no relacionado.

D. Interferencia

La infección en cultivos celulares o en animales enteros con dos virus a menudo da origen a la inhibición de la multiplicación de uno de los virus, un efecto conocido como interferencia. La interferencia en animales es diferente de la inmunidad específica. Además, la interferencia no ocurre con todas las combinaciones de virus; los virus pueden infectar y multiplicarse en la misma célula con la misma eficiencia que en casos de infecciones aisladas.

Se han dilucidado varios mecanismos como causas de interferencia: 1) Un virus puede inhibir la capacidad del segundo para unirse a la célula, ya sea al bloquear sus receptores (retrovirus, enterovirus) o al destruir sus receptores (ortomixovirus). 2) Un virus puede competir con el segundo por componentes del aparato de replicación (p. ej., polimerasa, factor de inicio de la traducción). 3) El primer virus puede ocasionar que la célula infectada produzca un inhibidor (interferón; cap. 30) que evita la replicación del segundo virus.

Vectores de virus

La tecnología de DNA recombinante ha revolucionado la producción de materiales biológicos, hormonas, vacunas, interferón y otros productos génicos. Los genomas virales han sido sometidos a ingeniería genética para servir como vectores de replicación y expresión de vectores tanto para virus como para genes celulares. Casi cualquier virus puede ser convertido a un vector si se sabe lo suficiente con respecto a sus funciones de replicación, controles de transcripción y señales de empaquetamiento. La tecnología de vector viral se basa en virus DNA (p. ej., SV40, parvovirus, papilomavirus bovino, adenovirus, herpesvirus, virus vaccinia) y RNAvirus (p. ej., poliovirus, virus Sindbis, retrovirus). Cada sistema tiene diferentes ventajas y desventajas.

Los vectores típicos de expresión eucariota contienen elementos de regulación viral (promotores) que controla la transcripción del gen clonado deseado, insertado adyacente a señales para la terminación eficiente y la poliadenilación de los productos de la transcripción y una secuencia intrónica unida por sitios donadores y receptores de empalme. Puede haber secuencias que favorezcan la traducción o afecten la expresión de un tipo celular en particular. Los principios de la tecnología de DNA recombinante se describen e ilustran en el capítulo 7. Este método ofrece la posibilidad de producir grandes cantidades de un antígeno puro para estudios estructurales o con el fin de crear una vacuna.

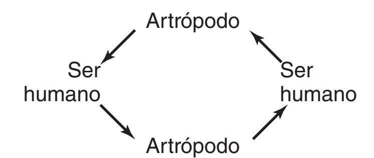
HISTORIA NATURAL (ECOLOGÍA) Y MODOS DE TRANSMISIÓN DE LOS VIRUS

La ecología es el estudio de las interacciones entre los microorganismos vivos y su entorno. Diferentes virus han evolucionado por mecanismos ingeniosos y a menudo complicados para sobrevivir en la naturaleza y para la transmisión de un hospedador a otro. El modo de transmisión utilizado por un virus dado depende de la naturaleza de las interacciones entre el virus y el hospedador.

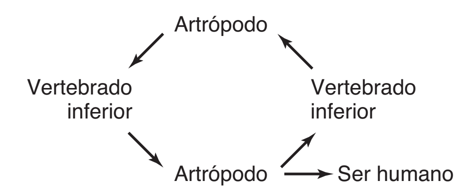
Los virus pueden transmitirse en las siguientes formas: 1) transmisión directa de una persona a otra por contacto. Los principales mecanismos incluyen gotas o aerosoles (p. ej., influenza, sarampión, viruela); por contacto sexual (p. ej., papilomavirus, hepatitis B, herpes simple tipo 2, virus de la inmunodeficiencia humana); por contacto mano-boca, mano-ojo o boca-boca (p. ej., herpes simple, rinovirus, virus de Epstein-Barr) o por intercambio de sangre contaminada (p. ej., hepatitis B, virus de la inmunodeficiencia humana; 2) transmisión indirecta por vía fecal-oral (p. ej., enterovirus, rotavirus, hepatitis A infecciosa) o por fómites (p. ej., virus Norwalk, rinovirus); 3) transmisión de un animal a otro, con los seres humanos como hospedador accidental. La diseminación puede ser por mordeduras (rabia) o por gotas o aerosoles de roedores contaminados (p. ej., arenavirus, hantavirus), y 4) transmisión por medio de un vector artrópodo (p. ej., arbovirus, ahora clasificados principalmente como togavirus, flavivirus y bunyavirus).

Se han identificado al menos tres patrones diferentes de transmisión entre los virus transportados por artrópodos:

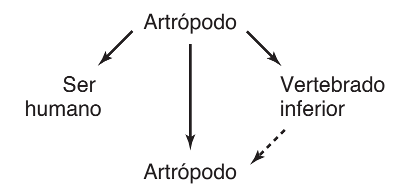
1. **Ciclo ser humano-artrópodo.** ***Ejemplos:*** fiebre amarilla urbana, dengue.



2. **Ciclo vertebrado inferior-artrópodo con infección colateral de seres humanos.** ***Ejemplos:*** fiebre amarilla de la jungla, encefalitis de San Luis. El ser humano infectado es un hospedador terminal. Existen mecanismos de transmisión más común.



3. **Ciclo artrópodo-artrópodo con infección ocasional de seres humanos y vertebrados inferiores.** ***Ejemplos:*** fiebre por garrapata de Colorado, encefalitis de LaCrosse.



En este ciclo, el virus puede transmitirse desde un artrópodo adulto a su descendencia a través de los huevos (paso transovárico); por tanto, el ciclo puede continuar con o sin la intervención de un hospedador vertebrado con viremia.

En vertebrados, la invasión de la mayor parte de los virus evocará una reacción violenta, por lo común de corta duración. El resultado es decisivo, ya sea que el hospedador fallezca o que viva a través de la producción de anticuerpos que neutralizan el virus. Sin importar el resultado, la estancia del virus suele ser corta, aunque persistente o en forma de infecciones latentes que pueden durar meses o años (hepatitis B, herpes simple, citomegalovirus, retrovirus). En los vectores artrópodos de los virus, la relación suele ser bastante diferente. El virus produce poco o ningún efecto patológico y permanece activo en el artrópodo a través de un estado de vida latente natural. Estos artrópodos, a diferencia de los vertebrados, actúan como hospedadores y reservorios permanentes.

Enfermedades virales emergentes

Como consecuencia de los amplios cambios en las actitudes sociales, en la tecnología y en el ambiente aunado a la disminución de la eficacia de métodos previos para el control de la enfermedad, el espectro de las enfermedades infecciosas se ha expandido hoy en día. Aparecen nuevos agentes patológicos y enfermedades una vez que se cree que se encuentran bajo control y se incrementa la incidencia conforme los patógenos evolucionan y se diseminan. El término de "enfermedades virales emergentes" denota tales fenómenos y sigue uno de tres patrones generales: identificación de un nuevo agente, incremento súbito en la enfermedad causada por un agente endémico e invasión de una nueva población de hospedadores.

La combinación de factores contribuye a la emergencia de enfermedades. Algunos factores incrementan la exposición de los seres humanos a patógenos alguna vez poco comunes; otros proporcionan un mecanismo de diseminación para infecciones que en algún momento estuvieron localizadas y otros más forzaron los cambios en las propiedades de los virus o en las respuestas del hospedador a la infección. Los factores incluyen: 1) cambios ambientales (deforestación u otros cambios en ecosistemas acuosos, inundaciones, sequías, hambrunas); 2) conductas del ser humano (conducta sexual, farmacodependencia, recreación al aire libre); 3) fenómenos socioeconómicos y demográficos (guerra, pobreza, crecimiento poblacional y migración, deterioro urbano); 4) viajes y comercio (autopistas, viajes aéreos internacionales); 5) producción de alimentos (globalización del suministro de alimentos, cambios en los métodos de procesamiento y embalaje de alimentos); 6) servicios de salud (nuevos dispositivos médicos, hemotransfusiones, trasplantes de órganos y de tejidos, fármacos que causan inmunodepresión, uso amplio de antibióticos); 7) adaptación microbiana (cambios en la virulencia, desarrollo de resistencia a fármacos, cofactores en enfermedades crónicas), y 8) medidas de salud pública (medidas sanitarias inadecuadas, mal control de los vectores, interrupción de los programas de prevención, falta de personal capacitado en números suficientes).

Algunos ejemplos de emergencia de infecciones virales en diferentes regiones del mundo incluyen el virus Ébola, virus Nipah, enfermedad pulmonar por hantavirus, infección por el virus de la inmunodeficiencia humana, dengue hemorrágico, virus del Nilo occidental, fiebre del valle Rift y encefalopatía espongiforme bovina (esta última una enfermedad por priones).

Un motivo de preocupación potencial incluye el posible uso de órganos de animales como xenoinjertos en seres humanos. Como el número de donadores humanos disponibles no puede satisfacer las necesidades de todos los pacientes en lista de espera, se considera como alternativa el gen o trasplante de primates no humanos y órganos porcinos. Existen preocupaciones con respecto a la posible introducción accidental de nuevos patógenos virales a partir de donadores animales a seres humanos.

Bioterrorismo

Los agentes usados para bioterrorismo son microorganismos (o toxinas) que pueden utilizarse para producir la muerte y enfermedad en seres humanos, animales o plantas con fines terroristas. Tales microorganismos pueden ser modificados genéticamente para incrementar su virulencia, hacerlos resistentes a fármacos o vacunas o incrementar su capacidad para diseminarse en el medio ambiente.

Los posibles agentes utilizados para bioterrorismo se clasifican en categorías de riesgo con base en la facilidad de diseminación o transmisión de una persona a otra, la tasa de mortalidad, capacidad de causar pánico público y necesidad de preparación de los sistemas de salud pública. Los agentes virales que se encuentran en la categoría de más alto riesgo incluyen la viruela y las fiebres hemorrágicas virales; las bacterias con mayor riesgo incluyen: ántrax, botulismo, peste y tularemia.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Algunos virus se caracterizan por simetría helicoidal de la nucleocápside viral. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones con respecto a los virus con simetría helicoidal es la más precisa?
   (A) Todos los virus envueltos con simetría helicoidal se clasifican en la misma familia de virus
   (B) Las nucleocápsides helicoidales se encuentran principalmente en los virus que contienen DNA
   (C) Todos los virus humanos con nucleocápsides helicoidales poseen una envoltura
   (D) En las células infectadas con frecuencia se producen partículas helicoidales vacías, que no contienen ácido nucleico
2. Las células infectadas por virus a menudo desarrollan cambios morfológicos que se conocen como efectos citopáticos. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones con respecto a los cambios citopáticos inducidos por virus es el más preciso?
   (A) Son patognomónicas para el virus infectante
   (B) Rara vez se asocian con muerte celular
   (C) Pueden incluir la formación de células gigantes
   (D) Pueden observarse sólo con microscopia electrónica
3. Los virus por lo común inician la infección al interactuar en primer lugar con receptores en la superficie celular. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es la más precisa con respecto a los receptores celulares para virus?
   (A) Los receptores celulares para virus no tienen una función celular conocida
   (B) Todos los virus en una familia dada utilizan el mismo receptor celular
   (C) Todas las células en hospedadores susceptibles expresan el receptor para el virus
   (D) La infección exitosa de una célula por un virus puede incluir interacciones con más de un tipo de receptor
4. ¿Cuál de los siguientes puede utilizarse para cuantificar los títulos de partículas virales infecciosas?
   (A) Análisis en placa
   (B) Microscopia electrónica
   (C) Hemaglutinación
   (D) Reacción en cadena de polimerasa
   (E) Enzimoinmunoanálisis de adsorción
5. ¿Cuál de los siguientes establece un principio con respecto al ácido nucleico viral?
   (A) Los virus contienen RNA y DNA
   (B) Algunos virus contienen genoma segmentado
   (C) El ácido nucleico viral purificado de cualquier virus suele ser infeccioso
   (D) Los tamaños del genoma viral son similares entre los virus humanos conocidos
6. Se han aislado dos mutantes de poliovirus, uno con una mutación en el gen X (MutX) y el segundo con una mutación en el gen Y

(MutY). Si las células se infectan cada una con un mutante aislado, no se producen virus. Si una célula se infecta con MutX y MutY, ¿cuál de las siguientes opciones tiene más probabilidad de ocurrir?

(A) Reordenamiento de los segmentos del genoma, lo que puede dar origen a un virus silvestre viable
(B) Los genomas pueden sufrir transcripción inversa a DNA con producción de virus MutX y MutY
(C) Complementación entre los productos génicos mutantes puede contribuir con producción de virus MutX y MutY
(D) Las células se transforman con alta frecuencia porque no serán destruidas por mutantes de poliovirus

7. ¿Cuál de los siguientes virus posee un genoma de RNA que es infeccioso en estado purificado?
(A) Virus de la influenza
(B) Poliovirus
(C) Papilomavirus
(D) Virus del sarampión
(E) Rotavirus

8. ¿Cuál de los siguientes virus es probable que cause infecciones latentes?
(A) Poxvirus
(B) Filovirus
(C) Herpesvirus
(D) Virus de la influenza
(E) Calicivirus

9. Algunos virus codifican una polimerasa de RNA dependiente del RNA viral. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es un principio con respecto a las polimerasas de RNA viral?
(A) Todos los RNAvirus portan moléculas de polimerasa de RNA en el interior de las partículas virales porque son necesarias para iniciar el siguiente ciclo infeccioso
(B) Los anticuerpos contra polimerasa de RNA viral neutralizan la infectividad del virus
(C) Los RNAvirus de cadena negativa proporcionan su propia polimerasa de RNA dependiente de RNA, porque las células eucariotas carecen de tales enzimas
(D) La polimerasa de RNA viral también actúa como proteína estructural importante en la partícula viral

10. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones con respecto a la morfología de los virus es verdadera?
(A) Todos los RNAvirus tienen forma esférica
(B) Algunos virus contienen flagelos
(C) Algunos virus con genomas de DNA contienen un núcleo primitivo
(D) Los virus son más pequeños que las bacterias
(E) Los virus son más grandes que las mitocondrias

11. Muchos virus pueden cultivarse en laboratorio. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones con respecto a la propagación de virus no es verdadera?
(A) Algunos virus pueden propagarse en medios exentos de células
(B) Algunos virus de mamíferos pueden cultivarse en huevo de gallina
(C) Algunos virus que afectan a varios hospedadores pueden multiplicarse en muchos tipos de células
(D) Algunos virus que afectan a los seres humanos pueden cultivarse en ratones
(E) La mayor parte de las preparaciones de virus tienen tasas de partículas infecciosas superiores a la unidad

12. Las infecciones pueden adquirirse en el laboratorio cuando se trabaja con virus a menos que se sigan buenas prácticas de seguridad adecuadas. ¿Cuál de las siguientes no es una buena práctica de seguridad?
(A) Uso de técnicas asépticas
(B) Uso de equipo de protección personal
(C) No controlar la pipeta con la boca
(D) Eliminar los productos de desecho en los fregaderos de laboratorio
(E) No consumir bebidas o alimentos en el laboratorio

Respuestas

1. C	4. A	7. B	10. D
2. C	5. B	8. C	11. A
3. D	6. C	9. C	12. D

BIBLIOGRAFÍA

Chiu W, Burnett RM, Garcea RL (editors): *Structural Biology of Viruses.* Oxford University Press, 1997.
Espy MJ et al: Real-time PCR in clinical microbiology: Applications for routine laboratory testing. Clin Microbiol Rev 2006;19:165. [PMID: 16418529]
Fauquet CM et al (editors): Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses. Eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, 2005.
Girones R: Tracking viruses that contaminate environments. Microbe 2006;1:19.
Guideline for hand hygiene in health-care settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. Society for Healthcare Epidemiology of America/Association for Professionals in Infection Control/Infectious Diseases Society of America. MMWR Recomm Rep 2002;51(RR-16):1.
Knipe DM et al (editors): *Fields Virology,* 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
Preventing emerging infectious diseases: A strategy for the 21st century. Overview of the updated CDC plan. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1998;47(RR-15):1.
Woolhouse MEJ: Where do emerging pathogens come from? Microbe 2006;1:511.



CAPÍTULO

30

Patogenia y control de enfermedades virales

PRINCIPIOS DE ENFERMEDAD VIRAL

El proceso fundamental de las infecciones por virus es el ciclo de replicación viral. La respuesta celular a la infección puede variar desde la ausencia de un efecto aparente hasta un estado citopatológico que conlleva la muerte celular acompañada por hiperplasia o cáncer.

La enfermedad viral es una anomalía peligrosa, consecuencia de la infección viral en el organismo hospedador, cuyas manifestaciones clínicas consisten en signos y síntomas evidentes. Un síndrome es un grupo específico de síntomas y signos. Las infecciones virales que no producen síntomas en el hospedador se denominan asintomáticas (subclínicas). De hecho, la mayor parte de tales infecciones no producen enfermedad (fig. 30-1).

Principios de importancia relacionados con enfermedad viral incluyen los siguientes: 1) muchas infecciones virales son subclínicas; 2) la misma enfermedad puede ser producida por diversos virus; 3) el mismo virus puede producir diversas enfermedades; 4) la enfermedad producida no tiene relación con la morfología del virus, y 5) el resultado en cualquier caso en particular depende de factores del virus en el hospedador y está influido por aspectos genéticos de ambos.

La **patogenia viral** es un proceso que ocurre cuando un virus infecta a un hospedador. La **patogenia de la enfermedad** es un subgrupo de eventos que se desarrollan durante una infección que da origen a la manifestación de la enfermedad en el hospedador. Un virus es **patógeno** para un hospedador en particular si puede infectarlo y causar signos de la enfermedad en dicho hospedador. Una cepa de cierto virus es más **virulenta** que otra cepa si ésta por lo común produce enfermedad más grave en un hospedador susceptible. La virulencia viral en animales intactos no debe confundirse con el efecto citopatógeno en las células cultivadas; los virus muy citocidas *in vitro* pueden ser inocuos *in vivo* y, por el contrario, los virus sin efecto citocida pueden causar enfermedad grave.

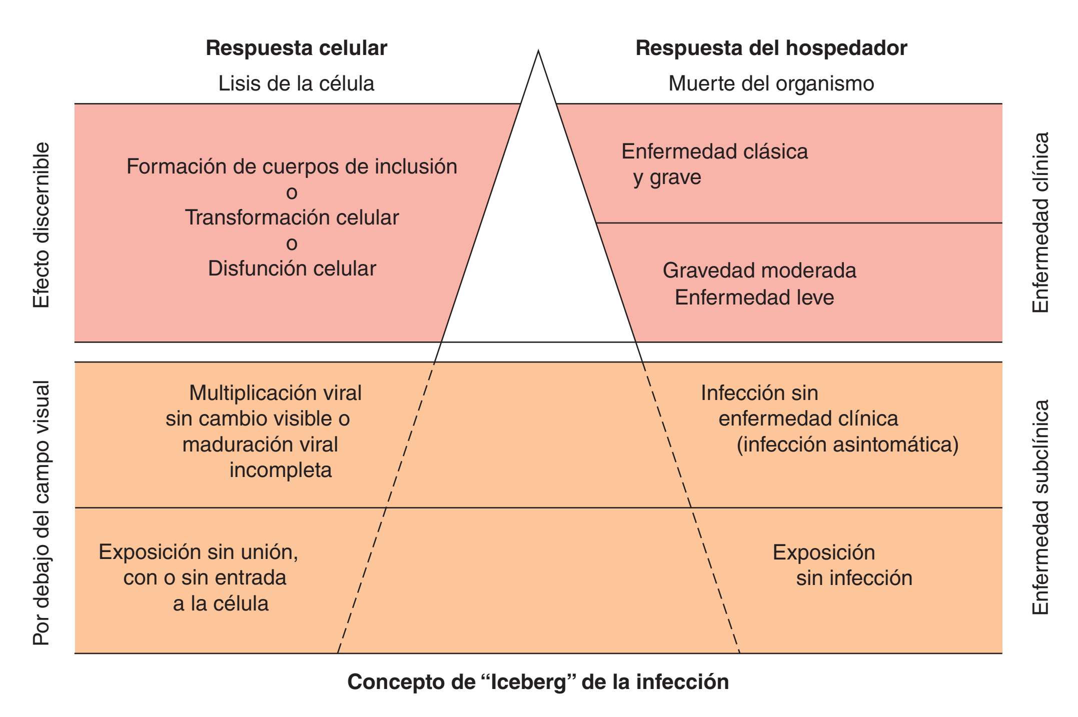


FIGURA 30-1 Tipos de respuestas del hospedador a la infección por virus. (Modificada con autorización de Evans AS: Epidemiological concepts. En: Evans AS, Brachman PS [editors]: *Bacterial Infections of Humans*, 2nd ed. Plenum, 1991.)

En el cuadro 30-1 se comparan características importantes de dos categorías generales de enfermedad viral aguda (local o sistémica).

PATOGENIA DE LAS ENFERMEDADES VIRALES

Para que se produzca la enfermedad, los virus deben penetrar al hospedador, ponerse en contacto con células susceptibles, replicarse y producir lesión celular. Es necesaria la comprensión de los mecanismos de patogenia viral al nivel molecular a fin de diseñar estrategias antivirales eficaces y específicas. Gran parte del conocimiento con respecto a la patogenia viral se basa en modelos en animales, porque tales sistemas pueden ser manipulados y estudiados con facilidad.

Pasos en la patogenia viral

A continuación se mencionan los pasos específicos involucrados en la patogenia viral: entrada del virus en el hospedador, replicación viral primaria, diseminación viral, lesión celular, respuesta inmunitaria del hospedador, eliminación del virus o establecimiento de infecciones persistentes y diseminación del virus.

A. Entrada y replicación primaria

Para que ocurra la infección en un hospedador, en primer lugar el virus debe unirse a las células y penetrarlas en alguna superficie corporal como piel, aparato respiratorio, tubo digestivo, aparato urogenital o conjuntiva. La mayor parte de los virus penetra en sus hospedadores a través de la mucosa del tubo digestivo o del aparato respiratorio (cuadro 30-2). Excepciones importantes son aquellos virus que se introducen directamente en el torrente sanguíneo por medio de agujas (hepatitis B, virus de la inmunodeficiencia humana) o por hemotransfusión, o bien a través de insectos vectores (arbovirus).

Los virus por lo común se replican en el sitio primario de entrada. Algunos, como los virus de la influenza (infecciones respiratorias) y los norovirus (infecciones gastrointestinales) producen enfermedad en el sitio de entrada y probablemente no tenga necesidad de diseminación sistémica adicional. Se observa diseminación local sobre las superficies epiteliales pero no a sitios distantes.

CUADRO 30-1 Características importantes de las enfermedades virales agudas

	Infecciones locales	Infecciones sistémicas
Ejemplos específicos de la enfermedad	Respiratoria (rinovirus)	Sarampión
Sitio de la enfermedad	Vía de entrada	Sitios distantes
Periodo de incubación	Relativamente breve	Relativamente largo
Viremia	Ausente	Presente
Duración de la inmunidad	Variable; puede ser corta	Por lo común de por vida
Participación en la resistencia mediante la producción de anticuerpos de secreción (IgA)	Por lo común importante	Por lo común sin importancia

B. Diseminación viral y tropismo celular

Muchos virus producen enfermedad en sitios distantes del punto de entrada (p. ej., enterovirus, los cuales entran a través del tubo digestivo pero producen enfermedad del sistema nervioso central). Después de la replicación primaria en el sitio de entrada, tales virus se diseminan en el hospedador (fig. 30-2). Los mecanismos de diseminación viral varían, pero el más común es a través del torrente sanguíneo o de los vasos linfáticos. La presencia de virus en sangre se denomina **viremia**. Pueden encontrarse viriones libres en el plasma (p. ej., enterovirus, togavirus) o estar relacionados con tipos celulares particulares (p. ej., virus del sarampión) (cuadro 30-3). Algunos virus incluso se multiplican en el interior de dichas células. En muchas infecciones virales la fase de viremia es corta. En algunos casos hay diseminación neuronal; este es el mecanismo por el cual en apariencia el virus de la rabia alcanza el encéfalo para causar la enfermedad y el mecanismo por el cual el virus del herpes simple se desplaza a los ganglios para iniciar infecciones latentes.

Los virus tienden a mostrar especificidad en cuanto a órgano y célula. Así, el tropismo determina el patrón de enfermedad sistémica producida durante una infección viral. Como ejemplo, el virus de la hepatitis B tiene tropismo por los hepatocitos y la hepatitis es la enfermedad primaria causada por el virus.

El tropismo hístico y celular por un virus dado por lo común refleja la presencia de receptores específicos en la superficie celular para dicho virus. Los receptores son componentes de la superficie celular en la cual una región de la superficie viral (cápside o envoltura) puede interactuar en forma específica e iniciar la infección. Los receptores son constituyentes de la célula que funcionan en el metabolismo celular normal pero que también tienen afinidad por un virus en particular. Para algunos virus se conoce la identidad de un receptor celular específico pero en muchos casos esto se desconoce.

Los factores que afectan la expresión génica viral son determinantes importantes del tropismo celular. Las regiones promotoras que muestran especificidad por algún tipo celular pueden regular la transcripción de genes virales. Por ejemplo, el promotor del poliomavirus JC es mucho más activo en células de la glía que en otros tipos celulares.

Otros mecanismos que evitan el tropismo hístico incluyen enzimas proteolíticas. Ciertos paramixovirus no son infecciosos hasta que las glucoproteínas de la envoltura sufren desdoblamiento proteolítico. En tejidos que no expresan las enzimas activadoras apropiadas no ocurren múltiples rondas de replicación viral.

La diseminación viral puede depender en parte de genes virales específicos. Los estudios con reovirus demuestran que la extensión de la diseminación a partir del tubo digestivo depende de una de las proteínas externas de la cápside.

C. Lesión celular y enfermedad clínica

La destrucción de células infectadas por los virus y las alteraciones fisiológicas producidas en el hospedador por la lesión hística son en parte la causa para el desarrollo de la enfermedad. Algunos tejidos, como el epitelio intestinal, pueden regenerarse

CUADRO 30-2 Vías comunes de infecciones virales en seres humanos

Vía de entrada	Un grupo viral	Produce síntomas locales en el sitio de entrada	Produce infección generalizada más enfermedad de órganos específicos
Aparato respiratorio	Parvovirus		B19
	Adenovirus	La mayor parte de los tipos	
	Herpesvirus	Virus de Epstein-Barr, virus del herpes simple	Virus de la varicela
	Poxvirus		Virus de la viruela
	Picornavirus	Rinovirus	Algunos enterovirus
	Togavirus		Virus de la rubéola
	Coronavirus	La mayor parte de los tipos	
	Ortomixovirus	Virus de la influenza	
	Paramixovirus	Virus de parainfluenza, virus sincitial respiratorio	Virus de la parotiditis y del sarampión
Boca, tubo digestivo	Adenovirus	Algunos tipos	
	Herpesvirus	Virus de Epstein-Barr, virus del herpes simple	Citomegalovirus
	Picornavirus		Algunos enterovirus, lo que incluye poliovirus y virus de la hepatitis A
	Reovirus	Rotavirus	
Piel			
Traumatismo leve	Papilomavirus	La mayor parte de los tipos	
	Herpesvirus	Virus del herpes simple	
	Poxvirus	Virus del molusco contagioso, virus orf	
Inyección	Hepadnavirus		Hepatitis B
	Herpesvirus		Virus de Epstein-Barr, citomegalovirus
	Retrovirus		Virus de la inmunodeficiencia humana
Mordeduras	Togavirus		Muchas especies, lo que incluye virus de la encefalitis equina oriental
	Flavivirus		Muchas especies, lo que incluye virus de la fiebre amarilla
	Rhabdovirus		Virus de la rabia

con rapidez y soportar daño intensivo mejor que otros, como el cerebro. Algunos efectos fisiológicos causan alteración no letal de células con funciones especializadas, por ejemplo la pérdida de producción de hormonas. Las enfermedades clínicas por infecciones virales son consecuencia de una serie compleja de eventos y se desconocen muchos factores que determinan el grado de la enfermedad. Los síntomas generales relacionados con muchas infecciones virales, como malestar y anorexia, pueden ser consecuencia de la respuesta del hospedador, por ejemplo la producción de citocinas. La enfermedad clínica es un indicador insensible de la infección viral; son muy comunes las infecciones virales asintomáticas.

D. Recuperación de la infección

Después de la infección viral el hospedador puede morir o recuperarse. Los mecanismos de recuperación incluyen respuestas inmunitarias innatas y adaptativas. Participan el interferón (IFN) y otras citocinas, la inmunidad celular y humoral y tal vez otros factores de defensa del hospedador. La importancia relativa de cada componente difiere con el virus y con la enfermedad.

La importancia de los factores del hospedador para influir en el resultado de las infecciones virales se ilustra por un incidente ocurrido en el decenio de 1940, en el cual 45 000 miembros del ejército fueron inoculados con virus de la hepatitis B y la vacuna estaba contaminada con virus de la fiebre amarilla. Aunque el personal estuvo sujeto en apariencia a exposiciones comparables, ocurrió hepatitis clínica en sólo 2% de los casos (914 casos) y de éstos sólo 4% desarrollaron enfermedad grave. La base genética para la **susceptibilidad del hospedador** debe ser establecida para la mayor parte de las infecciones.

En las infecciones agudas la recuperación se asocia con la eliminación del virus. Sin embargo, hay ocasiones en que el hospedador permanece con infección persistente por el virus. Más adelante se describen tales infecciones a largo plazo.

E. Diseminación viral

La última etapa en la patogenia es la diseminación del virus infeccioso hacia el medio ambiente. Este es un paso necesario para mantener la infección viral en la población de hospedadores. La diseminación por lo común ocurre a partir de superficies corporales que están relacionadas con el sitio de entrada del virus (fig. 30-2). La diseminación ocurre en diferentes etapas de la enfermedad, lo que depende del agente particular involucrado. Representa el tiempo en el cual un individuo infectado es infeccioso para sus contactos. En algunas infecciones virales, como en la rabia, los seres humanos sufren infecciones terminales y no ocurre diseminación.

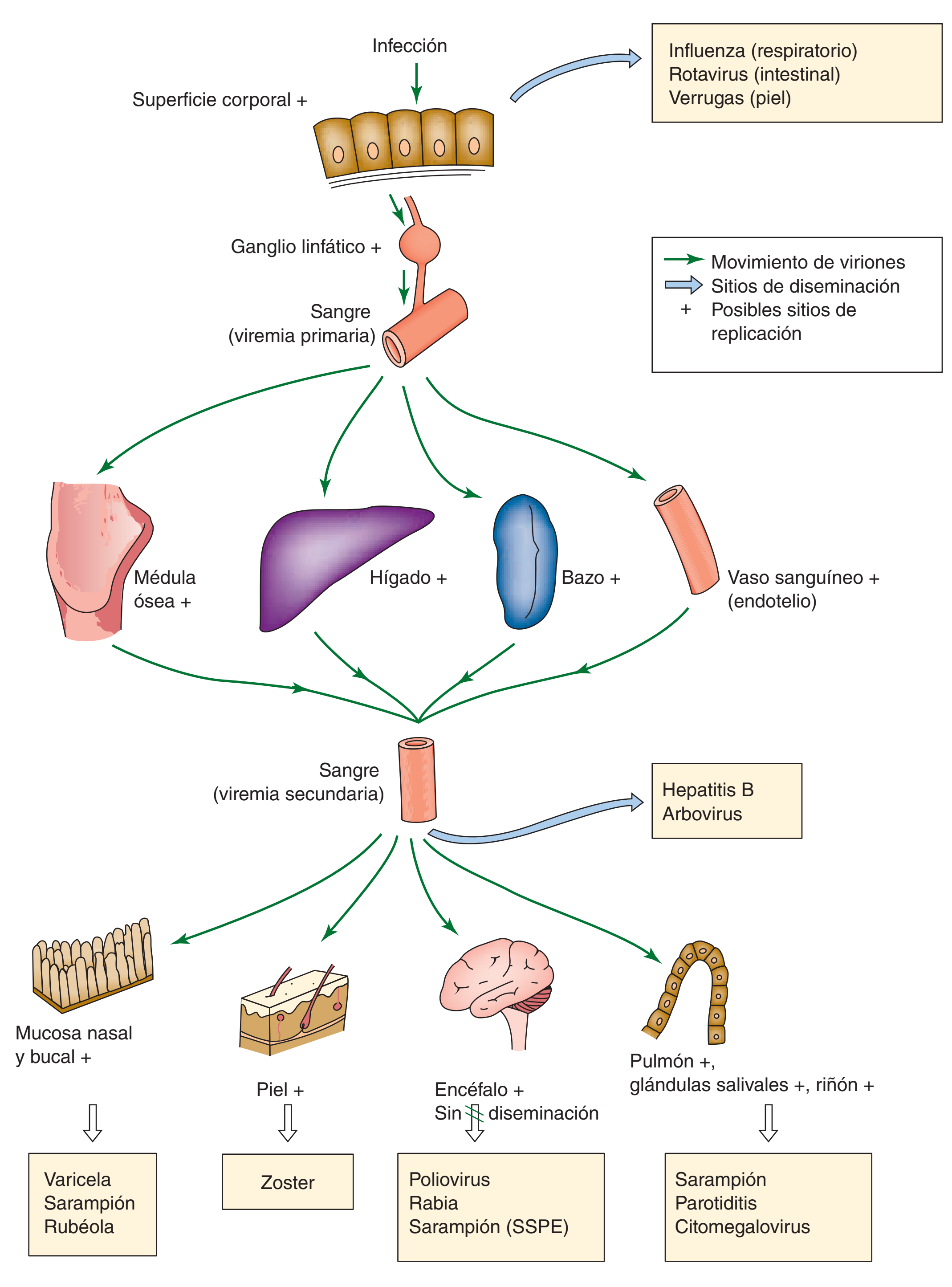


FIGURA 30-2 Mecanismo de diseminación de virus a través del cuerpo en infecciones virales en seres humanos. + indica sitios de posible replicación viral; las flechas grandes indican sitios de diseminación viral, con ejemplos de enfermedades en las cuales es importante la vía de excreción. La transferencia a partir de la sangre ocurre por transfusión en el caso de la hepatitis B y por picadura de mosquito en ciertas infecciones por arbovirus. SSPE, panencefalitis esclerosante subaguda. (Modificada y reproducida con autorización de Mims CA, White DO: *Viral Pathogenesis and Immunology*. Blackwell, 1984.)

Respuesta inmunitaria del hospedador

El resultado de las infecciones virales refleja la interacción entre los factores del virus y del hospedador. Los mecanismos de la defensa inespecíficos del hospedador por lo general se desencadenan poco después de la infección viral. La respuesta más prominente entre las respuestas inmunitarias innatas es la inducción de interferón (véase adelante). Dicha respuesta ayuda a inhibir la proliferación viral durante el tiempo que tarda la inducción de una respuesta inmunitaria específica, humoral y celular.

Los componentes humoral y celular de la respuesta inmunitaria participan en el control de la infección viral. Los virus desencadenan una respuesta hística diferente de la respuesta a las bacterias patógenas. Los leucocitos polimorfonucleares constituyen la principal respuesta celular a la inflamación aguda causada por bacterias piógenas en tanto que en las lesiones virales

CUADRO 30-3 Diseminación de virus a través del torrente sanguíneo[a]

Tipo celular asociado	Ejemplos	
	DNAvirus	RNAvirus
Linfocitos	Virus de Epstein-Barr, citomegalovirus, virus de hepatitis B, virus JC, virus BK	Parotiditis, sarampión, rubéola, virus de la inmunodeficiencia humana
Monocitos-macrófagos	Citomegalovirus	Poliovirus, virus de la inmunodeficiencia humana, virus del sarampión
Neutrófilos		Virus de la influenza
Eritrocitos	Parvovirus B19	Virus de la fiebre por garrapata de Colorado
Ninguno (libre en el plasma)		Togavirus, picornavirus

[a]Modificado con autorización de Tyler KL, Fields BN: Pathogenesis of viral infections. En: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al (editors). Lippincott-Raven, 1996.

no complicadas la reacción inflamatoria se caracteriza por infiltración con células mononucleares y linfocitos.

Las proteínas codificadas por los virus actúan como objetivo para la respuesta inmunitaria. Las células infectadas por virus pueden ser destruidas por linfocitos T citotóxicos como consecuencia de la identificación de polipéptidos virales en la superficie celular. La inmunidad humoral protege al hospedador contra la reinfección por el mismo virus. Los anticuerpos neutralizantes dirigidos contra proteínas de la cápside bloquean el inicio de la infección viral, probablemente en la etapa de unión, penetración o pérdida de la envoltura. Los anticuerpos IgA secretores son importantes en la protección de la infección contra virus a través del aparato respiratorio o del tubo digestivo.

Algunas características especiales de ciertos virus pueden tener efectos notables en la respuesta inmunitaria del hospedador. Ciertos virus infectan y dañan células del sistema inmunitario. El ejemplo más espectacular es el retrovirus humano relacionado con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) que infecta linfocitos T y destruye su capacidad funcional (cap. 44).

La susceptibilidad y respuesta del hospedador a la infección están determinadas genéticamente; a menudo las diferencias dependen de la información genética de la respuesta inmunitaria.

Los virus han evolucionado en diversas formas que les permiten inhibir o evadir la respuesta inmunitaria y de esta manera evitan ser destruidos. En ocasiones las proteínas virales relacionadas en la modulación de la respuesta del hospedador no son esenciales para el crecimiento del virus en cultivos de tejidos y sus propiedades se hacen evidentes sólo en experimentos de patogenia en animales. Además de infectar células del sistema inmunitario y suprimir su función (VIH) también pueden infectar neuronas que expresan pocas o no expresan moléculas MHC de clase I (herpesvirus) o pueden codificar proteínas inmunomoduladoras que inhiben la función de MHC (adenovirus, herpesvirus) o inhiben la actividad de citocinas (poxvirus, virus del sarampión). Los virus pueden mutar y cambiar el sitio antigénico en las proteínas del virión (virus de la influenza, VIH) o causar regulación descendente del nivel de expresión de proteínas virales en la superficie celular (herpesvirus). La mayor parte de los virus tiene estrategias contra el interferón (véase adelante).

En seres humanos inmunizados con vacuna que contenía virus inactivados de sarampión o virus sincitial respiratorio (que ya no se encuentra en uso) se observó un trastorno inmunopatológico. Unas cuantas personas desarrollaron una respuesta inmunitaria poco común que dio origen a consecuencias graves cuando más tarde tuvieron exposición natural al virus infeccioso. El dengue hemorrágico con estado de choque que se desarrolla en personas que ya han sufrido al menos una infección previa con otro serotipo de dengue puede ser una manifestación natural del mismo tipo de trastorno inmunopatológico.

Otro efecto adverso potencial de la respuesta inmunitaria es el desarrollo de autoanticuerpos. Si un antígeno viral desencadena anticuerpos que fortuitamente reconocen un determinante antigénico en las proteínas celulares en tejidos normales, puede surgir una lesión celular o pérdida de la función no relacionada con la infección viral. Hoy en día se desconoce la magnitud de este problema potencial en la enfermedad de seres humanos.

Comparación de la patogenia de la enfermedad viral de la piel y del sistema nervioso central

En la figura 30-3 se muestran esquemas de la patogenia de la viruela del ratón (una enfermedad de la piel) y de la poliomielitis humana (enfermedad del sistema nervioso central). Ambos virus se multiplican en el sitio primario de entrada antes de la diseminación sistémica a los órganos afectados.

En la viruela del ratón, el virus penetra al cuerpo a través de lesiones pequeñas en la piel y se multiplica en las células epidérmicas. Al mismo tiempo, es transportado por los conductos linfáticos a los ganglios linfáticos regionales, donde también ocurre multiplicación. Pocas partículas virales alcanzan el torrente sanguíneo a través de vasos linfáticos aferentes y son captados por macrófagos del hígado y del bazo. Los virus se multiplican con rapidez en ambos órganos, seguido de la liberación de virus del hígado y bazo, con desplazamiento a través del torrente sanguíneo y localización en las capas epidérmicas basales de la piel, células de la conjuntiva y cerca de los folículos linfáticos en el intestino. En ocasiones el virus también puede localizarse en las células epiteliales de riñón, pulmón, glándulas submaxilares y páncreas. En el sitio de entrada del virus ocurre una lesión primaria, aparece como una hinchazón localizada que se incrementa de tamaño con rapidez, sufre edema, ulceración y formación de costra; continúa con la aparición de exantema generalizado, que es el momento en que se liberan grandes cantidades del virus al medio ambiente.

En el caso de la poliomielitis, el virus entra a través del tubo digestivo, se multiplica en forma local en el sitio inicial de implantación del mismo (amígdalas, placas de Peyer) o en los ganglios linfáticos que drenan tales tejidos e inicia la aparición del virus en faringe y en heces. Ocurre diseminación viral secundaria a través del torrente sanguíneo hacia otros tejidos susceptibles, en específico, a otros ganglios linfáticos y el sistema nervioso central. En este último, el virus se disemina a lo largo de sus fibras nerviosas; si ocurre multiplicación rápida conforme el virus se disemina a través del sistema nervioso central, se destruyen las neuronas motoras y ocurre parálisis. La diseminación al medio ambiente no depende de la diseminación viral secundaria

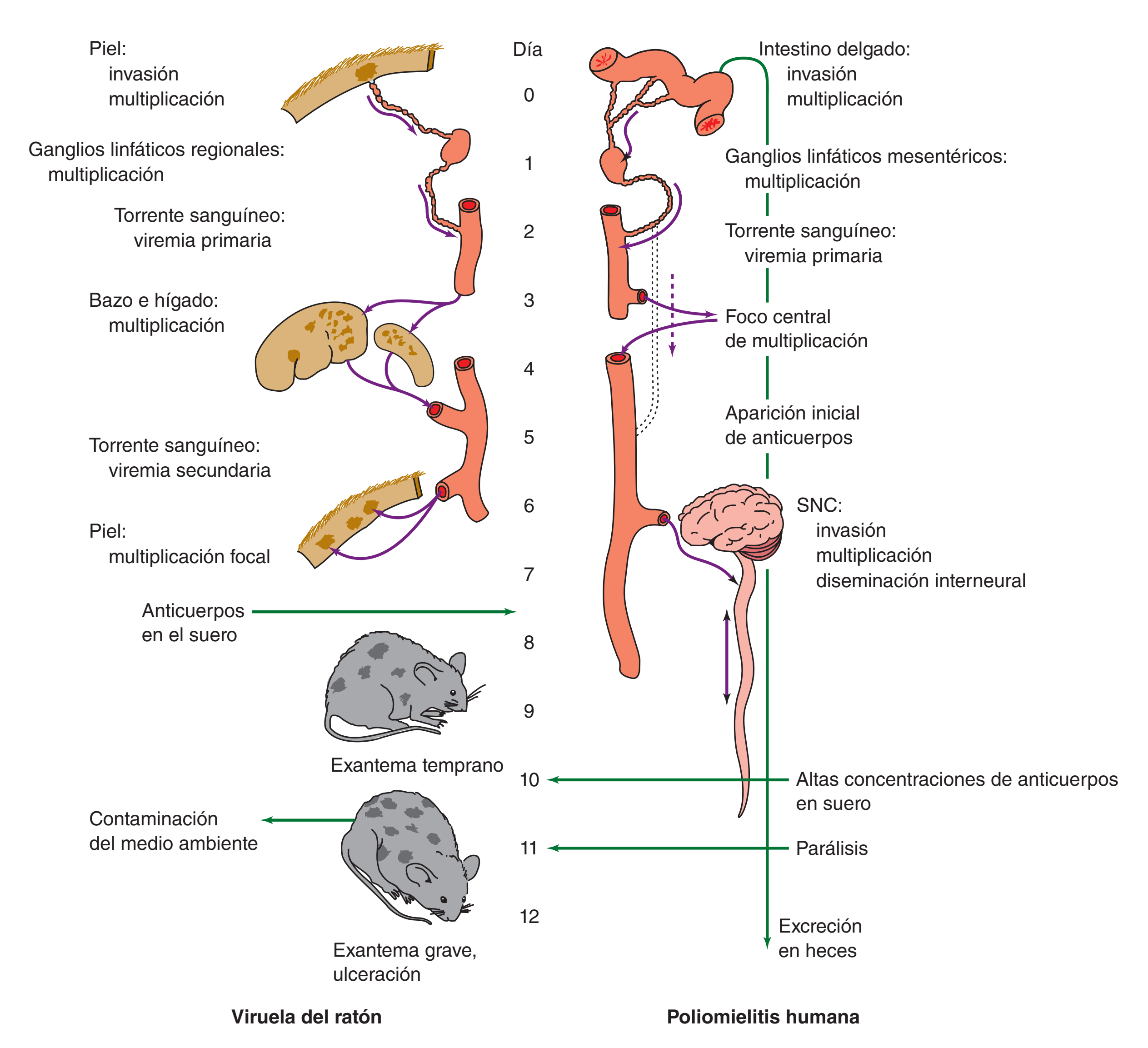


FIGURA 30-3 Esquema de la patogenia de la poliomielitis y viruela del ratón. SNC, sistema nervioso central. (Cortesía de F. Fenner.)

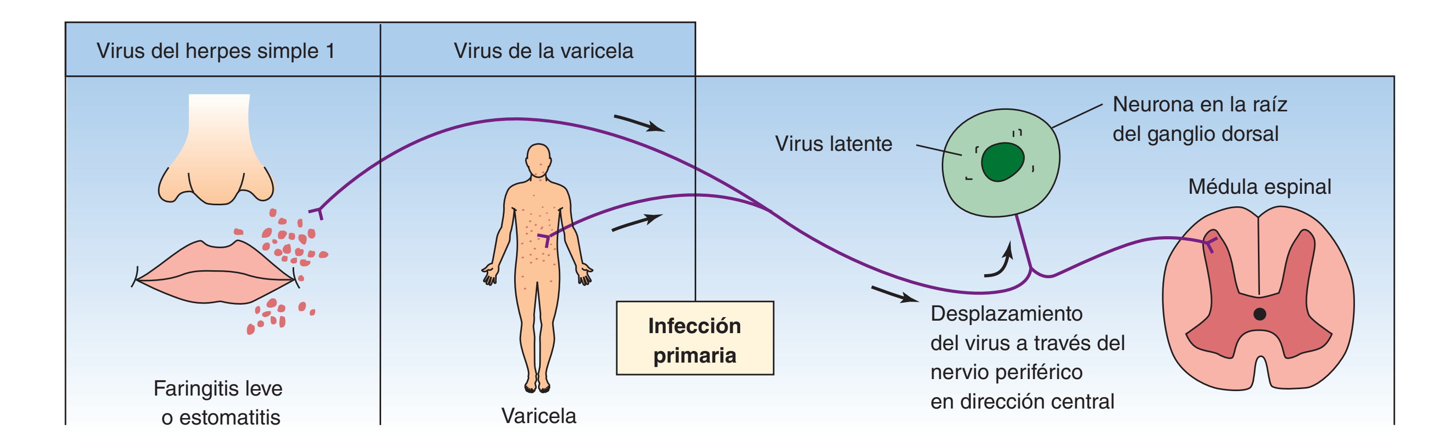
al sistema nervioso central. La diseminación a este último se previene con rapidez por la presencia de anticuerpos inducidos por infección previa o por vacunación.

Persistencia viral: infecciones virales crónicas y latentes

Las infecciones son **agudas** cuando el virus infecta por primera vez a un hospedador susceptible. Las infecciones virales por lo común ceden en forma espontánea. Sin embargo, algunas veces el virus persiste en el hospedador por periodos prolongados. Las interacciones a largo plazo entre el virus y el hospedador pueden tomar varias formas. Las **infecciones crónicas** (también denominadas **infecciones persistentes**) son aquellas en las cuales se detecta replicación continua del virus, a menudo en bajas concentraciones; podrían observarse síntomas clínicos leves o ausencia de manifestaciones clínicas. En las **infecciones latentes** el virus persiste en forma oculta la mayor parte del tiempo, sin producción de nuevas partículas virales. Se observan brotes intermitentes de la enfermedad clínica; durante tales brotes pueden recuperarse virus infecciosos. Por medio de técnicas moleculares en tejidos es posible detectar secuencias virales en los tejidos con infecciones latentes. Las infecciones **subclínicas o asintomáticas** son aquellas sin signos evidentes de su presencia.

Las infecciones crónicas ocurren con varios virus animales y en ciertos casos la persistencia de la infección depende de la edad del hospedador cuando sufrió la infección. Por ejemplo, en seres humanos las infecciones por citomegalovirus y por virus de la rubéola adquiridas *in utero,* en forma característica dan origen a persistencia viral de duración limitada, tal vez por el desarrollo de una respuesta inmunitaria para reaccionar ante la infección conforme madura el niño. Los lactantes infectados con virus de la hepatitis B con frecuencia sufren infección persistente (portadores crónicos); la mayor parte de los portadores cursan asintomáticos (cap. 35). En las infecciones crónicas con RNAvirus, la población viral a menudo sufre muchos cambios genéticos y antigénicos.

El herpesvirus por lo común produce infecciones latentes. El virus del herpes simple penetra en los ganglios sensoriales y persiste en un estado no infeccioso (fig. 30-4). Puede haber reactivaciones periódicas, durante las cuales las lesiones contienen virus infecciosos en sitios periféricos (p. ej., herpes labial). El



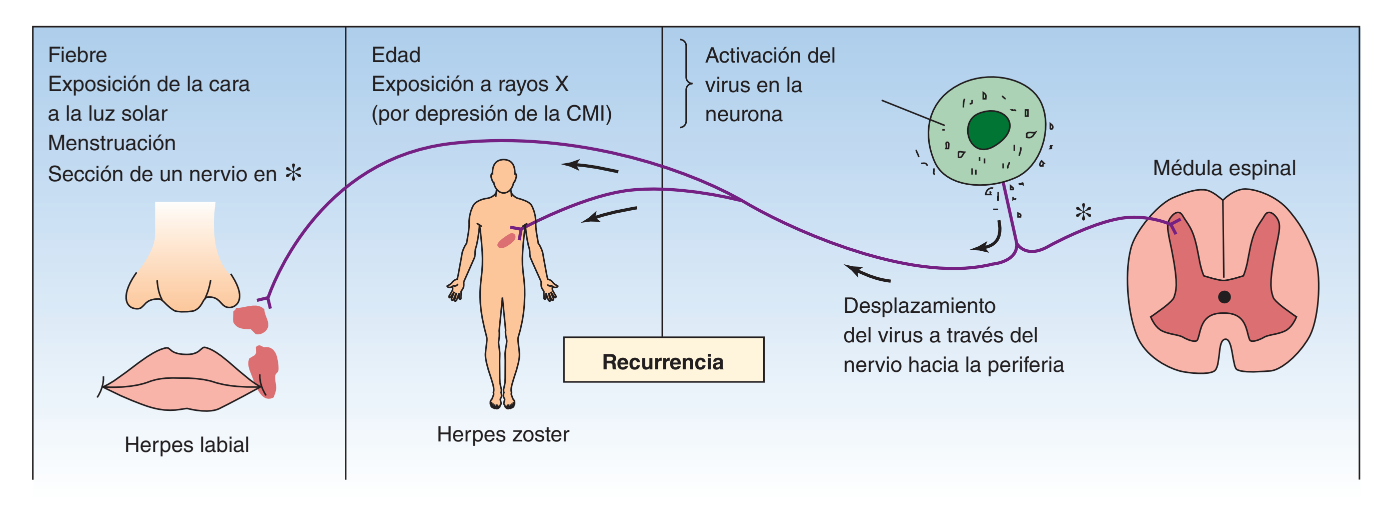


FIGURA 30-4 Infecciones latentes por herpesvirus. Los ejemplos que se muestran son por virus del herpes simple y varicela zoster. Las infecciones primarias ocurren en la infancia o adolescencia, seguidas por el establecimiento de virus latentes en tejido cerebral o en los ganglios espinales. La activación tardía causa herpes simple o herpes zoster recurrentes. Las recurrencias son poco comunes para herpes zoster. CMI, inmunidad celular. (Reproducida con autorización de Mims CA, White DO: *Viral Pathogenesis and Immunology*. Blackwell, 1984.)

virus de la varicela (virus de varicela-zoster) también permanece en estado latente en los ganglios sensoriales. Las recurrencias son poco comunes y ocurren años más tarde, por lo común siguiendo la distribución de un nervio periférico (herpes zoster). Otros miembros de la familia herpesvirus también causan infecciones latentes, lo que incluye al citomegalovirus y virus de Epstein-Barr. Todos ellos pueden reactivarse en estados de inmunodepresión. En consecuencia, las infecciones por reactivación de herpesvirus pueden ser una complicación grave para personas que reciben tratamiento inmunodepresor.

Las infecciones virales persistentes pueden causar enfermedades de largo alcance en seres humanos y se asocian con ciertos tipos de cáncer (cap. 43) así como enfermedades degenerativas y progresivas del sistema nervioso central (cap. 42). En la figura 30-5 se muestran ejemplos de diferentes tipos de infecciones virales persistentes.

Las encefalopatías espongiformes son un grupo de infecciones crónicas, progresivas y letales del sistema nervioso central causadas por agentes no convencionales, transmisibles, denominados priones (cap. 42). Se cree que los priones no son virus. Los mejores ejemplos de este tipo de infecciones "lentas" son el visna de las ovejas y la encefalopatía espongiforme bovina del ganado; en seres humanos ocurren la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob y kuru.

Generalidades de infecciones respiratorias virales agudas

Muchos tipos de virus obtienen el acceso al cuerpo humano a través del aparato respiratorio, sobre todo en la forma de gotas por aerosoles o saliva. Este es el medio más frecuente de penetración del virus en el hospedador. Ocurren infecciones exitosas pese a los mecanismos protectores normales del hospedador, lo que incluye la cubierta de moco en la mayor parte de las superficies, la acción ciliar, cúmulos de células linfoides, macrófagos alveolares e IgA secretora. Muchas infecciones permanecen localizadas en el aparato respiratorio, aunque algunos virus producen síntomas característicos de la enfermedad después de la diseminación sistémica (p. ej., varicela, sarampión, rubéola; cuadro 30-2, fig. 30-2).

Los síntomas de la enfermedad mostrados por el hospedador dependen de si la infección afecta en forma predominante el aparato respiratorio superior o inferior (cuadro 30-4). El diagnóstico definitivo requiere aislamiento del virus, identificación de la secuencia génica viral, demostración del incremento en los títulos de anticuerpos, pero por lo común la enfermedad viral específica puede deducirse con base en los síntomas principales, la edad del paciente, época del año y patrones de enfermedad en la comunidad.

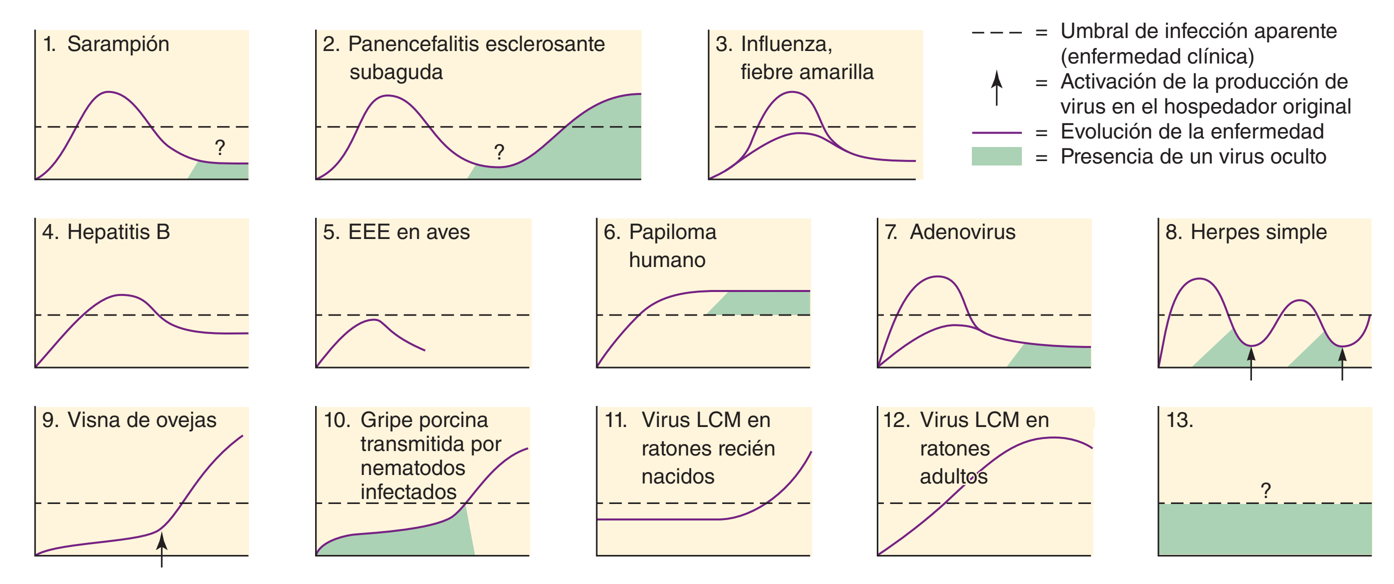


FIGURA 30-5 Diferentes tipos de interacciones entre virus y hospedador: infección aparente (enfermedad clínica), no aparente (subclínica), crónica, latente, oculta y lenta. **1)** El virus del sarampión presenta evolución aguda, casi siempre con manifestaciones clínicas aparentes y da origen a inmunidad de larga duración. **2)** El sarampión también parece relacionarse con persistencia de infecciones latentes en la panencefalitis esclerosante subaguda (cap. 40). **3)** La fiebre amarilla e influenza siguen un patrón similar al del sarampión con excepción de que la infección a menudo puede ser subclínica. **4)** En la hepatitis B la recuperación de la enfermedad clínica puede relacionarse con infección crónica en la cual persiste el virus completamente activo en la sangre. **5)** Algunas infecciones, en particular en algunas especies, siempre cursan sin manifestaciones clínicas, como en el caso de la encefalomielitis equina oriental (EEE) en la que algunas especies de aves actúan como reservorios del virus. **6)** En seres humanos la evolución de la infección por papiloma es crónica; cuando se desarrolla cáncer cervicouterino el virus se encuentra presente pero oculto (sin replicación). **7)** La infección de seres humanos con ciertos adenovirus puede ser clínica o subclínica. Puede haber infecciones latentes prolongadas durante las cuales el virus se encuentra presente en pequeñas cantidades; también puede haber persistencia de los virus después de la enfermedad. **8)** La reactivación periódica del virus del herpes simple latente, el cual puede presentar recurrencias a lo largo de toda la vida en seres humanos, a menudo se continúa como un episodio agudo inicial de estomatitis en la infancia. **9)** La infección puede pasarse por alto por periodos prolongados antes de que sea evidente. Ejemplos de tales "infecciones lentas" que se caracterizan por periodos prolongados de incubación son el visna en las ovejas y kuru en seres humanos (aunque éstas son causadas por priones, no por virus). **10)** En cerdos que comen nematodos que portan virus, la gripe porcina permanece oculta hasta que el estímulo apropiado induce la producción de virus y, a su vez, la enfermedad clínica. **11)** El virus de la coriomeningitis linfocítica (LCM) puede establecerse en ratones por infección *in utero*. Se desarrolla una forma de tolerancia inmunitaria en la cual no se activan los linfocitos T específicos contra el virus. Se producen anticuerpos contra proteínas virales; así los anticuerpos y el virus LCM forman complejos antígeno-anticuerpo que producen enfermedad por complejos inmunitarios en el hospedador. La presencia de virus LCM en esta infección crónica (virus circulante con poca o ninguna enfermedad aparente) puede revelarse por la transmisión a un hospedador que actúe como indicador, por ejemplo, un ratón adulto que pertenece a una cepa sin exposición al virus. **12)** Todos los ratones adultos desarrollan síntomas agudos clásicos de coriomeningitis linfocítica y con frecuencia fallecen. **13)** Se muestra la posibilidad de infección con un virus oculto del cual no es posible detectar su replicación. La prueba de la presencia de tal virus permanece como una actividad difícil, sin embargo, llama la atención de los investigadores en cáncer (cap. 43).

CUADRO 30-4 Infecciones virales del aparato respiratorio

		Causas virales más comunes		
Síndromes	**Síntomas principales**	**Lactantes**	**Niños**	**Adultos**
Resfriado común	Obstrucción nasal, secreción nasal	RNAvirus DNAvirus	RNAvirus DNAvirus	RNAvirus Coronavirus
Faringitis	Faringodinia	DNAvirus Herpes simple	DNAvirus Coxsackie	DNAvirus Coxsackie
Laringitis/crup	Disfonía, tos seca	Parainfluenza, influenza	Parainfluenza Influenza	Parainfluenza Influenza
Traqueobronquitis	Tos	Parainfluenza Influenza	Parainfluenza Influenza	Influenza DNAvirus
Bronquiolitis	Tos, disnea	Virus sincitial respiratorio Parainfluenza	Poco común	Poco común
Neumonía	Tos, dolor torácico	Virus sincitial respiratorio Influenza	Influenza Parainfluenza	Influenza DNAvirus

La gravedad de las infecciones respiratorias puede variar desde infección asintomática hasta infección grave. Las enfermedades más graves por lo común se observan en lactantes infectados con ciertos paramixovirus y en adultos de edad avanzada o con enfermedades crónicas infectados con virus de la influenza.

Generalidades de infecciones virales del tubo digestivo

Muchos virus inician la infección a través del tubo digestivo. Unos cuantos agentes, como el virus del herpes simple y virus de Epstein-Barr probablemente infectan las células de la boca. Los virus quedan expuestos en el tubo digestivo a los elementos nocivos presentes en el mismo como alimentos, ácido, sales biliares (detergentes) y enzimas proteolíticas. En consecuencia, los virus capaces de iniciar la infección por esta ruta son resistentes a las sales biliares y al ácido. Puede haber IgA secretora específica para el virus e inhibidores inespecíficos de la replicación viral que deben ser superados.

El término gastroenteritis aguda se refiere a la enfermedad gastrointestinal de corta duración con síntomas que van desde diarrea leve acuosa hasta enfermedad febril grave caracterizada por vómito, diarrea y postración. Las principales causas de gastroenteritis incluyen rotavirus, virus Norwalk y calicivirus. Los lactantes y niños son los afectados con mayor frecuencia.

Algunos virus que producen infecciones entéricas utilizan proteasas del hospedador para facilitar la infección. En términos generales, la digestión proteolítica altera la cápside viral por desdoblamiento parcial de la superficie proteínica viral que más tarde facilita un evento específico como la unión del virus o la fusión con la membrana.

Los enterovirus, coronavirus y adenovirus también infectan el tubo digestivo, pero a menudo tales infecciones son asintomáticas. Algunos enterovirus, sobre todo poliovirus y virus de la hepatitis A son causas importantes de enfermedad sistémica pero no producen síntomas gastrointestinales.

Generalidades de las infecciones virales cutáneas

La piel es una barrera resistente e impermeable a la entrada del virus. Sin embargo, unos cuantos virus son capaces de romper esta barrera e iniciar la infección del hospedador (cuadro 30-2). Algunos logran la entrada a través de abrasiones pequeñas de la piel (poxvirus, papilomavirus, virus del herpes simple), otros se introducen por mordeduras de artrópodos vectores (arbovirus) u hospedadores vertebrados infectados (virus de la rabia, herpesvirus B) y otros más son inyectados durante hemotransfusiones u otras manipulaciones que implican el uso de agujas contaminadas, por ejemplo en acupuntura y tatuajes (virus de la hepatitis B, VIH).

Unos cuantos agentes permanecen localizados y producen lesiones en el sitio de entrada (papilomavirus y molusco contagioso); la mayor parte se diseminan a otros sitios. La capa epidérmica carece de vasos sanguíneos y fibras nerviosas, de forma que los virus que infectan las células epidérmicas tienden a permanecer localizados. Los virus que se introducen profundos en la dermis tienen acceso a vasos sanguíneos, conductos linfáticos, células dendríticas y macrófagos y por lo común se diseminan y causan infecciones sistémicas.

Muchos de los exantemas generalizados relacionados con infecciones virales se desarrollan porque el virus se disemina a la piel a través del torrente sanguíneo después de la replicación en otro sitio. Tales infecciones se originan por otra vía (p. ej., las infecciones por virus del sarampión ocurren a partir del aparato respiratorio) y la piel se infecta desde abajo.

Las lesiones en los exantemas se clasifican como máculas, pápulas, vesículas o pústulas. Las máculas son causadas por dilatación local de los vasos sanguíneos de la dermis y progresan a pápulas si hay edema e infiltración celular en el área. Se forman vesículas si hay afección de la epidermis y se transforman en pústulas si la reacción inflamatoria suministra leucocitos polimorfonucleares a la lesión. Esto se continúa con ulceración y formación de costra. Los exantemas hemorrágicos y petequiales ocurren cuando hay afección más intensa de los vasos de la dermis.

Las lesiones cutáneas con frecuencia no participan en la transmisión viral. El virus infeccioso no se disemina a partir del exantema maculopapular del sarampión o de los exantemas relacionados con infecciones por arbovirus. Por el contrario, las lesiones cutáneas son importantes en la diseminación de poxvirus y virus del herpes simple. Las partículas virales infecciosas se encuentran presentes en títulos altos en el líquido de los exantemas vesicopustulares capaces de iniciar la infección por contacto directo con otros hospedadores. Sin embargo, incluso en estos casos, se cree que los viriones presentes en las secreciones orofaríngeas pueden ser más importantes para la transmisión de la enfermedad que las lesiones cutáneas.

Generalidades de las infecciones virales del sistema nervioso central

La invasión del sistema nervioso central por virus siempre es una situación grave. Los virus logran el acceso al encéfalo por dos vías: a través del torrente sanguíneo (diseminación hematógena) y por fibras nerviosas periféricas (diseminación neuronal). El acceso a través de la sangre puede ocurrir por la proliferación a través del endotelio de los vasos cerebrales de pequeño calibre, por transporte pasivo a través del endotelio vascular y por el paso a través del plexo coroideo hacia el líquido cefalorraquídeo o bien por el transporte en monocitos, leucocitos o linfocitos infectados. Una vez que se atraviesa la barrera hematoencefálica, es posible la diseminación más amplia a través del encéfalo y de la médula espinal. Hay cierta correlación entre el nivel de viremia logrado por los virus neurotrópicos transmitidos a través de la sangre y la invasión del tejido nervioso.

La otra vía de acceso al sistema nervioso central es a través de los nervios periféricos. Los viriones pueden ser captados en un nervio sensorial o en una terminal motora y desplazarse a lo largo de los axones, a través de los espacios endoneurales o por infección de las células de Schwann. El herpesvirus viaja en axones para alcanzar la raíz dorsal de los ganglios nerviosos.

Las vías de diseminación no son mutuamente excluyentes y un virus puede utilizar más de un método. Muchos virus, lo que incluye herpesvirus, togavirus, flavivirus, enterovirus, rabdovirus, paramixovirus y bunyavirus pueden infectar el sistema nervioso central y son causa de meningitis, encefalitis o ambas. La encefalitis causada por el virus del herpes simple es la causa más común de encefalitis esporádica en seres humanos.

Las reacciones patológicas a las infecciones virales citocidas del sistema nervioso central incluyen necrosis, inflamación y fagocitosis de las células de la glía. La causa de los síntomas en otras infecciones del sistema nervioso central, como la rabia, es poco clara. La encefalitis posinfecciosa que ocurre después de sarampión (alrededor de uno por cada 1 000 casos) es más rara después de infecciones por rubéola y se caracteriza por desmielinización sin degeneración neuronal y probablemente es una enfermedad autoinmunitaria.

Hay varios trastornos neurodegenerativos poco comunes, denominados infecciones por virus lentos, que son invariablemente letales. Las características de estas infecciones incluyen periodos prolongados de incubación (meses o años), seguidos por el inicio de enfermedad clínica y deterioro progresivo que ocasionan la muerte en semanas o meses; por lo común hay afectación del sistema nervioso central. Algunas infecciones por virus lentos, como la leucoencefalopatía multifocal progresiva (poliomavirus JC) y la panencefalitis esclerosante subaguda (virus del sarampión) son causadas por virus típicos. Por el contrario, las encefalopatías espongiformes subagudas, de las cuales el visna de las ovejas es un ejemplo típico, son enfermedades causadas por priones, agentes infecciosos no convencionales. En tales infecciones, ocurren cambios neuropatológicos pero no se desencadena una respuesta inflamatoria o inmunitaria.

Generalidades de las infecciones virales congénitas

Pocos virus producen enfermedad en los fetos humanos. La mayor parte de las infecciones virales maternas no ocasionan viremia y afectación fetales. Sin embargo, si el virus cruza la placenta y ocurre infección *in utero*, puede haber un daño grave al feto.

Tres principios participan en la producción de defectos congénitos: 1) la capacidad del virus para infectar a la mujer embarazada y que dicha infección se transmita al feto; 2) la etapa de gestación en la cual ocurre la infección, y 3) la capacidad del virus de causar daño al feto en forma directa, por infección del feto o en forma indirecta a través de la infección de la madre que da origen a un entorno fetal alterado (p. ej., fiebre). La secuencia de eventos que pueden ocurrir antes y después de la infección viral del feto se muestran en la figura 30-6.

El virus de la rubéola y citomegalovirus son a la fecha los principales agentes causantes de defectos congénitos en seres humanos (caps. 33 y 40). Las infecciones congénitas también pueden ocurrir con virus del herpes simple, virus de varicela-zoster, hepatitis B, sarampión, parotiditis, VIH, parvovirus y algunos enterovirus (cuadro 30-5).

Las infecciones *in utero* pueden ocasionar muerte fetal, parto prematuro, retraso del crecimiento intrauterino o infección posnatal persistente. Pueden surgir malformaciones del desarrollo, lo que incluye defectos cardiacos congénitos, cataratas, sordera, microcefalia e hipoplasia de las extremidades. El tejido

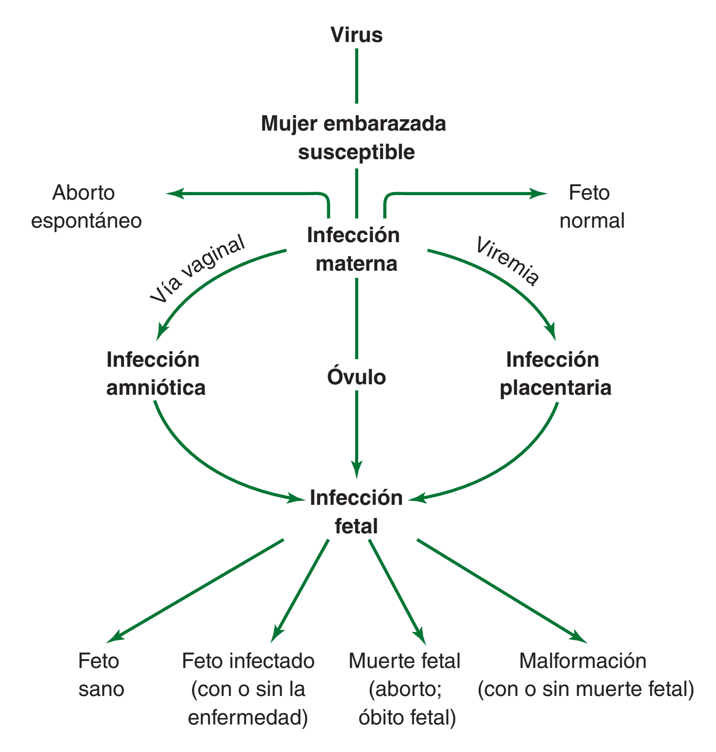


FIGURA 30-6 Infección viral del feto. (Cortesía de L. Catalano y J. Sever.)

CUADRO 30-5 Adquisición de infecciones virales perinatales importantes

Virus	Frecuencia del tiempo de infección: Perinatal (*in utero*)	Durante el parto	Posnatal (después del parto)	Incidencia neonatal (por 1 000 nacidos vivos)
Rubéola	+	–	Poco común	0.1-0.7
Citomegalovirus	+	++	+	5-25
Herpes simple	+	++	+	0.03-0.5
Varicela-zoster	+	Poco común	Poco común	Poco común
Hepatitis B	+	++	+	0-7
Enterovirus	+	++	+	Poco común
VIH	+	++	Poco común	Variable
Parvovirus B19	+	–	Poco común	Poco común

fetal prolifera con rapidez. La infección y multiplicación virales pueden destruir o alterar la función celular. Los virus líticos, como el herpes simple, en ocasiones produce muerte fetal. Es posible que los virus menos citolíticos como el de la rubéola reduzcan la tasa de división celular. Si esto ocurre durante una fase crítica en el desarrollo de órganos pueden surgir defectos estructurales y anomalías congénitas.

Muchos de los mismos virus pueden producir enfermedades graves en el recién nacido (cuadro 30-5). Tales infecciones en ocasiones se adquieren de la madre durante el parto por secreciones genitales contaminadas, heces o sangre. Con menor frecuencia las infecciones se adquieren durante las primeras semanas de vida (posnatales) por fuentes maternas, miembros de la familia, personal hospitalario o hemotransfusiones.

Efecto de la edad del hospedador

La edad del hospedador es un factor en la patogenicidad viral. En recién nacidos a menudo se producen enfermedades más graves. Además de la maduración de la respuesta inmunitaria con la edad, parece haber cambios relacionados con la edad en la susceptibilidad de ciertos tipos celulares a la infección viral. Las infecciones virales por lo común ocurren en todos los grupos de edad pero tienen mayor impacto en diferentes momentos de la vida. Los ejemplos incluyen la rubéola, que es más grave durante el embarazo; el rotavirus es más grave en lactantes y la encefalitis de San Luis es más grave en individuos de edad avanzada.

PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES VIRALES

Quimioterapia antiviral

A diferencia de los virus, las bacterias y protozoarios no dependen de los mecanismos celulares del hospedador para su replicación, de forma que los procesos específicos para estos microorganismos proporcionan objetivos para el desarrollo de fármacos antibacterianos y antiprotozoarios. Los virus son parásitos intracelulares obligados, por tanto los fármacos antivirales deben ser capaces de inhibir de manera selectiva funciones virales sin dañar al hospedador, lo que dificulta el desarrollo de tales fármacos. Otra limitación es que ocurren varias rondas de replicación viral durante el periodo de incubación y los virus deben diseminarse antes de la aparición de síntomas, lo que hace a los fármacos relativamente ineficaces.

Existe la necesidad de fármacos antivirales activos contra virus para los cuales no se cuenta con vacunas o no son muy eficaces; esto último quizá por la presencia de múltiples serotipos (p. ej., rinovirus) o por los virus en cambio constante (p. ej., influenza, VIH). Los antivirales pueden utilizarse para el tratamiento de infecciones establecidas cuando las vacunas ya no son eficaces; son necesarios para reducir la morbilidad y la pérdida económica por infecciones virales y para el tratamiento del número creciente de individuos con inmunodepresión, quienes se encuentran en riesgo alto de desarrollar infecciones.

Los estudios de virología molecular están teniendo éxito para identificar funciones virales específicas que pueden servir como objetivo para el tratamiento antiviral. Las etapas más susceptibles para el tratamiento de infecciones virales incluyen la unión del virus a la célula del hospedador; la pérdida de la cubierta del genoma viral, síntesis de ácidos nucleicos virales, traducción de proteínas virales y el ensamble y liberación de la progenie de partículas virales. En realidad, ha sido muy difícil desarrollar antivirales que puedan diferenciar los procesos de replicación del virus y del hospedador.

Sin embargo, en la última década se han desarrollado varios compuestos que son de utilidad en el tratamiento de algunas enfermedades virales, en particular contra el virus del herpes y las infecciones por VIH (cuadro 30-6). A continuación se resumen algunos ejemplos. Los mecanismos de acción varían entre los antivirales. En ocasiones el fármaco debe activarse por medio de enzimas en la célula antes de que puedan actuar como inhibidor de la replicación viral; los fármacos más selectivos se activan por enzimas codificadas por el virus en las células infectadas.

Se necesitan trabajos adicionales para aprender a reducir el surgimiento de virus resistentes a fármacos y diseñar antivirales más específicos con base en la información molecular referente a la estructura y replicación de las diferentes clases de virus.

A. Análogos nucleósidos

La mayor parte de los antivirales disponibles son análogos nucleósidos que inhiben la replicación de ácido nucleico al inhibir las polimerasas para la replicación de los ácidos nucleicos. Además, algunos análogos pueden incorporarse en el ácido nucleico y bloquear la síntesis adicional o bien alterar su función.

Los análogos pueden inhibir enzimas celulares y enzimas codificadas por los virus. Los análogos más eficaces son aquellos que son capaces de inhibir de manera específica las enzimas codificadas por los virus, con mínima inhibición de enzimas celulares análogas del hospedador. Con el paso del tiempo por lo común surgen variantes de virus resistentes a los fármacos, en ocasiones con bastante rapidez. El uso de combinaciones de fármacos antivirales puede retrasar el surgimiento de variantes resistentes (p. ej., el tratamiento con tres fármacos utilizado para el tratamiento de las infecciones por VIH).

Ejemplos de nucleósidos análogos incluyen aciclovir (acicloguanosina), lamivudina (3TC), ribavirina, vidarabina (arabinósido de adenina) y zidovudina (azidotimidina; AZT).

B. Análogos nucleótidos

Los análogos nucleótidos difieren de los análogos nucleósidos porque tienen unido un grupo fosfato. Su capacidad para persistir en las células por periodos prolongados incrementa su potencia. Un ejemplo es cidofovir (HPMPC).

C. Inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa

La nevirapina fue el primer miembro de esta clase de fármacos. No requiere de fosforilación para su actividad y no compite con los trifosfatos de nucleósido. Actúa por unión directa con la transcriptasa inversa y altera el sitio catalítico enzimático. Surgen con rapidez mutantes resistentes.

D. Inhibidores de la proteasa

El saquinavir fue el primer inhibidor de la proteasa que se aprobó para el tratamiento de la infección por VIH. Es un fármaco peptidomimético diseñado por remodelamiento por computadora como una molécula que se ajusta en el sitio activo de la

CUADRO 30-6 Ejemplos de compuestos antivirales utilizados para el tratamiento de infecciones virales

Fármaco	Análogo nucleósido	Mecanismo de acción	Espectro viral[a]
Aciclovir	Sí	Inhibidor de la polimerasa viral	Herpes simple, varicela-zoster
Amantadina	No	Bloquea la pérdida de la cubierta viral	Influenza A
Cidofovir	No	Inhibidor de la polimerasa viral	Citomegalovirus, herpes simple, poliomavirus
Didanosina (ddI)	Sí	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH-1, VIH-2
Entecavir	Sí	Inhibidor de la transcriptasa inversa	HBV
Foscarnet	No	Inhibidor de la polimerasa viral	Herpesvirus, VIH-1, HBV
Fuzeon	No	Inhibidor de la fusión de VIH (bloquea la entrada viral)	VIH-1
Ganciclovir	Sí	Inhibidor de la polimerasa viral	Citomegalovirus
Indinavir	No	Inhibidor de la proteasa de VIH	VIH-1, VIH-2
Lamivudina (3TC)	Sí	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH-1, VIH-2, HBV
Lopinavir	No	Inhibidor de la proteasa de VIH	VIH-1
Maraviroc	No	Inhibidor de la entrada (bloquea la unión CCR5)	VIH-1
Nevirapina	No	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH-1
Oseltamivir	No	Inhibidor de la neuraminidasa viral	Influenza A y B
Raltegravir	No	Inhibidor de la integrasa	VIH-1
Ribavirina	Sí	Al parecer bloquea la cubierta de mRNA viral	Virus sincitial respiratorio, influenza A y B, fiebre de Lassa, hepatitis C, otros
Ritonavir	No	Inhibidor de la proteasa de VIH	VIH-1, VIH-2
Saquinavir	No	Inhibidor de la proteasa de VIH	VIH-1, VIH-2
Estavudina (d4T)	Sí	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH-1, VIH-2
Trifluridina	Sí	Inhibidor de la polimerasa viral	Herpes simple, citomegalovirus, vaccinia
Valaciclovir	Sí	Inhibidor de la polimerasa viral	Herpesvirus
Vidarabina	Sí	Inhibidor de la polimerasa viral	Herpesvirus, vaccinia, HBV
Zalcitabina (ddC)	Sí	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH-1, VIH-2, HBV
Zidovudina (AZT)	Sí	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH-1, VIH-2, HTLV-1

[a]HBV, virus de hepatitis B; VIH-1, VIH-2, virus de la inmunodeficiencia humana de tipos 1 y 2; HTLV-1, virus tipo 1 de la leucemia de linfocitos T.

proteasa de VIH. Este fármaco inhibe la proteasa viral que es necesaria en etapas avanzadas del ciclo de replicación para el desdoblamiento de los polipéptidos precursores *gag* y *gag-pol* para formar la región central de viriones maduros y activar la transcriptasa inversa que se utilizará en la siguiente ronda de infección. La inhibición de la proteasa da origen a partículas virales no infecciosas. Los inhibidores de la proteasa incluyen indinavir, ritonavir y otros no mencionados aquí.

E. Inhibidores de la fusión

Un polipéptido de gran tamaño denominado fuzeon bloquea los pasos de la fusión entre el virus y la membrana celular del hospedador que participan en la entrada de VIH-1 en las células.

F. Otros tipos de antivirales

Varios compuestos de otros tipos han mostrado poseer cierta actividad antiviral bajo ciertas condiciones.

1. Amantadina y rimantadina. Estas aminas sintéticas inhiben de manera específica a los virus de la influenza A al bloquear la pérdida de la cubierta viral. Deben administrarse en forma profiláctica para un efecto protector significativo.

2. Foscarnet (ácido fosfonofórmico). Es un análogo orgánico de un pirofosfato inorgánico que inhibe en forma selectiva las polimerasas de DNA viral y las transcriptasas inversas en el sitio de unión de pirofosfato.

3. Metisazona. Sólo es de interés histórico como inhibidor de poxvirus. Fue el primer agente antiviral descrito y contribuyó a la campaña de erradicación de la viruela. Bloquea la replicación viral en sus etapas avanzadas, dando origen a la formación de partículas virales inmaduras, no infecciosas.

Interferones

Los interferones son proteínas codificadas por el hospedador que pertenecen a un gran grupo de familias de citocinas que inhiben la replicación viral. Se producen con gran rapidez (en término de horas) en respuesta a infecciones virales u otros inductores y son una de las primeras respuestas corporales en la defensa contra infecciones virales. El interferón fue la primera citocina en ser identificada, es fundamental en la respuesta inmunitaria innata contra los virus. También modula las respuestas inmunitaria humoral y celular y tiene una amplia gama de actividades reguladoras en la proliferación celular, pero sólo se revisarán sus efectos antivirales.

A. Propiedades de los interferones

Hay múltiples especies de interferones (IFN) que se clasifican en tres grupos generales, designados IFN-α, IFN-β e IFN-γ (cuadro 30-7). Los IFN α y β se consideran IFN virales o de tipo I, en tanto que el IFN-γ es un interferón inmunitario o de tipo II. La familia de IFN-α es grande y es codificada por al menos 20 genes en el genoma humano; las familias de IFN-β e IFN-γ están codificadas por un gen cada uno. Las tres familias genéticas muestran divergencia, de forma que codifican secuencias que no tienen relación estrecha.

Los diferentes interferones son similares en cuanto a tamaño, pero las tres clases son distintas desde el punto de vista antigénico. IFN-α e IFN-β son resistentes al pH bajo. IFN-β e IFN-γ están glucosilados, pero los carbohidratos no son necesarios para su actividad biológica, de forma que los interferones clonados producidos en bacterias tienen actividad biológica. Las células dendríticas son productores potentes de interferones; bajo las mismas condiciones de exposición al virus las células dendríticas pueden secretar hasta 1 000 veces más interferón que los fibroblastos.

B. Síntesis de interferones

Todos los vertebrados producen interferones. Las células normales no suelen sintetizar IFN hasta que son inducidas para la síntesis. La infección con virus es una lesión potente que da origen a la inducción; los RNAvirus son inductores más potentes de IFN que los DNAvirus. Los RNAvirus de doble tira, endotoxinas bacterianas y moléculas pequeñas como tilorona también pueden inducir la síntesis de interferones. No se produce IFN-γ en respuesta a la mayor parte de los virus, pero la estimulación mitógena da origen a la inducción.

Diferentes tipos celulares producen distintas clases de IFN. Muchos tipos celulares sintetizan IFN-α e IFN-β pero el IFN-γ lo producen principalmente los linfocitos, sobre todo las células T y los linfocitos citolíticos naturales. Las células dendríticas son productores potentes de IFN; bajo las mismas condiciones de exposición al virus, dichas células pueden secretar hasta 1 000 veces más IFN que los fibroblastos.

C. Actividad antiviral y otros efectos biológicos

Los interferones se reconocieron por primera vez por su capacidad para interferir con la infección viral en células cultivadas. Se detectan poco después de la infección viral en animales intactos y más tarde hay reducción en la producción de partículas virales

CUADRO 30-7 Propiedades de los interferones humanos

	Tipo		
Propiedad	**Alfa**	**Beta**	**Gamma**
Nomenclatura actual	IFN-α	IFN-β	IFN-γ
Designación anterior	Leucocito	Fibroblasto	Interferón inmunitario
Tipo de designación	Tipo I	Tipo I	Tipo II
Número de genes que codifican a la familia	≥20	1	1
Principal fuente celular	La mayor parte de tipos celulares	La mayor parte de tipos celulares	Linfocitos
Agente inductor	Virus; dsRNA	Virus; dsRNA	Mitógenos
Estabilidad en pH 2.0	Estable	Estable	Lábil
Glucosilada	No	Sí	Sí
Intrones en los genes	No	No	Sí
Homología con IFN-α	80-95%	30%	<10%
Ubicación cromosómica de los genes	9	9	12
Tamaño de la proteína secretada (número de aminoácidos)	165	166	143
Receptor de IFN	IFNAR	IFNAR	IFNGR
Ubicación cromosómica de los genes de los receptores de IFN	21	21	6

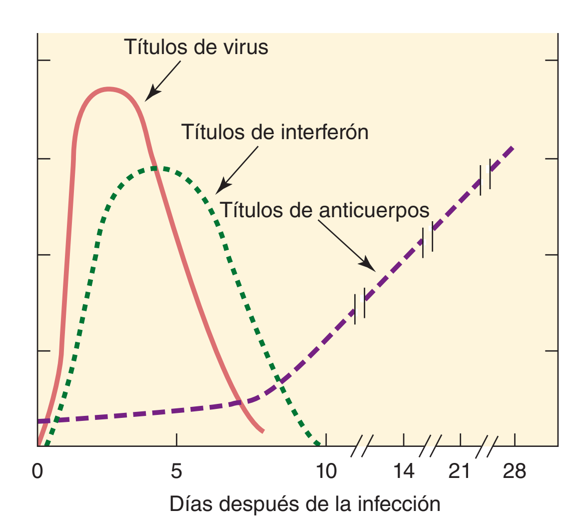


FIGURA 30-7 Ilustración de la cinética del interferón y la síntesis de anticuerpos después de la infección respiratoria viral. Las relaciones temporales sugieren que el interferón participa en las defensas iniciales del hospedador contra las infecciones virales.

(fig. 30-7). Los anticuerpos no aparecen en la sangre de animales hasta varios días después que ha disminuido la producción de partículas virales. Esta relación temporal sugiere que el interferón desempeña una función primaria en las defensas inespecíficas del hospedador contra infecciones virales. Tal conclusión también está sustentada por observaciones en individuos con agammaglobulinemia que por lo común se recuperan de infecciones virales primarias casi igual de bien que las personas sanas.

El interferón que produce la propia célula infectada por el virus no la protege a ella y éste no es en sí mismo un agente antiviral. El interferón se desplaza a las otras células donde induce un estado antiviral al favorecer la síntesis de otras proteínas que en realidad inhiben la replicación viral. Las moléculas de interferón se unen de manera específica a receptores en la superficie celular en las células efectoras. IFN-α e IFN-β poseen los mismos receptores en tanto que IFN-γ es reconocido por un receptor diferente. La unión con el receptor desencadena la fosforilación de tirosina y la activación de factores de transcripción (proteínas STAT) en el citoplasma, que más tarde sufren translocación hacia el núcleo y median la transcripción de genes inducibles por interferón (lo que ocurre en el lapso de unos cuantos minutos después de la unión del interferón). Esto ocasiona la síntesis de varias enzimas que parecen ser fundamentales en el desarrollo del estado antiviral. Varias vías parecen participar, lo que incluye: 1) una proteína cinasa dependiente de dsRNA (PKR), la cual causa la fosforilación y desactivación del factor de inicio celular eIF-2 y de esta forma evita la formación del complejo de inicio necesario para la síntesis de proteínas virales; 2) la sintetasa 2-5A es una sintetasa de oligonucleótidos que activa a una endonucleasa celular denominada RNasa L, que a su vez ocasiona degradación de mRNA; 3) una fosfodiesterasa que inhibe el elongamiento de la cadena peptídica, y 4) sintetasa de óxido nítrico, cuya secreción es inducida por IFN-γ en los macrófagos. Sin embargo, estas explicaciones no indican por qué se induce un estado antiviral selectivo contra el mRNA viral y no contra el mRNA celular. El interferón también puede ocasionar la inhibición de otras etapas en la replicación viral.

Los interferones casi siempre son específicos de la especie en cuanto a su función pero no son específicos para un virus dado. Puede inhibirse la replicación de una amplia gama de virus con DNA y RNA. Cuando se añade interferón a las células antes de la infección, hay una inhibición notable en la replicación viral pero una función celular casi normal. Los interferones son extremadamente potentes, de forma que para su función se necesitan cantidades muy pequeñas. Se calcula que son suficientes menos de 50 moléculas de interferón para inducir un estado antiviral.

D. Mecanismos virales para contrarrestar el efecto de los interferones

Los virus cuentan con diferentes mecanismos para bloquear las actividades inhibidoras de los interferones sobre la replicación viral, proceso necesario para superar esta línea de defensa del hospedador. Por ejemplo: las proteínas virales específicas pueden bloquear la expresión para la inducción de interferón (herpesvirus, papilomavirus, filovirus, virus de la hepatitis C, rotavirus); pueden bloquear la activación de la proteína cinasa PKR (adenovirus, herpesvirus); pueden activar un inhibidor celular de PKR (influenza, poliovirus); pueden bloquear la transducción de señales inducidas por los interferones (adenovirus, herpesvirus, virus de la hepatitis B); o pueden neutralizar el IFN-γ al actuar como receptores solubles de IFN (virus del mixoma).

E. Estudios clínicos

Al inicio se esperaba que los interferones pudieran ser la respuesta para la prevención de muchas enfermedades virales, como las infecciones respiratorias, en las cuales pueden participar diferentes virus. Sin embargo, su utilización se torna impráctica porque para que sean eficaces deben administrarse dosis elevadas antes de la exposición al virus o en etapas muy tempranas de la infección, antes de la aparición de signos clínicos de la enfermedad. El IFN-α recombinante es beneficioso para el control de las infecciones por los virus de la hepatitis B y C en el hígado (cap. 35), aunque es común la recaída después de interrumpir el tratamiento. La administración tópica de interferón en el ojo puede suprimir la queratitis herpética y acelerar la curación.

Se han aprobado varias preparaciones de interferones para uso clínico. Los interferones pueden causar muchos efectos secundarios, más a menudo de tipo sistémico y hematológicos.

Vacunas de virus

El propósito de las vacunas de virus es utilizar la respuesta inmunitaria del hospedador para la prevención de enfermedades virales. Varias vacunas han demostrado ser muy eficaces para reducir la incidencia anual de la enfermedad viral (fig. 30-8). La vacunación es el método más rentable para la prevención de infecciones virales graves.

A. Principios generales

La inmunidad a la infección viral se basa en el desarrollo de una respuesta inmunitaria a antígenos específicos localizados en la superficie de partículas virales o de células infectadas por virus. Para los virus envueltos, los antígenos importantes son las glucoproteínas de superficie. Los animales infectados pueden desarrollar anticuerpos contra las proteínas de la región central del virión o contra proteínas no estructurales relacionadas en la replicación viral, pero se cree que la respuesta inmunitaria es de poca o ninguna utilidad en el desarrollo de resistencia a la infección.

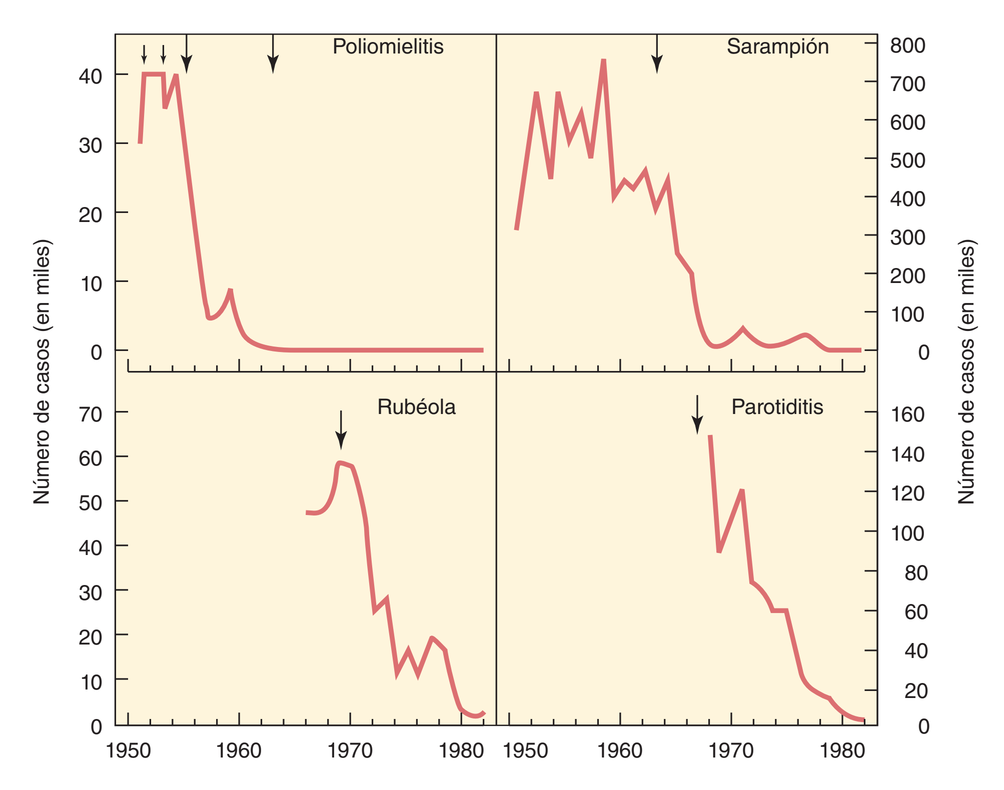


FIGURA 30-8 Incidencia anual de varias enfermedades virales en Estados Unidos. La fecha de introducción de la vacuna se indica por medio de flechas. (Datos de los *Centers for Disease Control and Prevention*.)

Se cuenta con vacunas para la prevención de varias enfermedades significativas en seres humanos. A la fecha, las vacunas disponibles (cuadro 30-8) se describen en detalle en los capítulos donde se revisan las familias de virus y enfermedades específicas.

La patogenia de una infección viral particular influye en los objetivos de la inmunoprofilaxis. La inmunidad de la mucosa (IgA local) es importante en la resistencia a la infección por virus que se replican en las mucosas (rinovirus, virus de la influenza, rotavirus) o que invaden a través de la mucosa (papilomavirus). Los virus que se diseminan por medio de viremia (polio, hepatitis A y B, fiebre amarilla, varicela, parotiditis, sarampión) se controlan con anticuerpos séricos. La inmunidad celular también participa en la protección contra infecciones sistémicas (sarampión, herpes).

Existen ciertas características de un virus o de la enfermedad viral que pueden complicar la generación de una vacuna eficaz. La existencia de muchos serotipos, como los rinovirus y un gran número de reservorios animales, como el virus de la influenza, hacen difícil la producción de vacunas. Otros obstáculos incluyen la integración del DNA viral en el DNA cromosómico del hospedador (retrovirus) y la infección de las células del sistema inmunitario del hospedador (VIH).

B. Vacunas de virus inactivados

Las vacunas de virus inactivados (virus muertos) se elaboran mediante la purificación de preparados virales con inactivación subsiguiente de la infectividad viral de forma que se produzca daño mínimo a las proteínas estructurales del virus; con frecuencia se utiliza el tratamiento con formol (cuadro 30-9). Para algunas enfermedades las vacunas de virus inactivados son las únicas disponibles hasta la fecha.

Dichas vacunas se preparan con viriones intactos y por lo común estimulan el desarrollo de anticuerpos circulantes contra las proteínas de la cubierta del virus, confiriendo cierto grado de resistencia.

Las ventajas de las vacunas con virus inactivados son que no hay reversión ha estado de virulencia por el virus vacunal y que las vacunas pueden elaborarse cuando no se dispone de virus atenuados aceptables.

Las vacunas de virus inactivados tienen las siguientes desventajas:

1. Se necesita extremo cuidado en la fabricación para asegurar que no existan virus vivos virulentos residuales en la vacuna.
2. La inmunidad conferida a menudo es breve y deben aplicarse refuerzos, lo que implica problemas logísticos para aplicar en forma recurrente la vacunación, y también ha causado preocupaciones con respecto a los posibles efectos de la administración repetida de proteínas extrañas (reacciones de hipersensibilidad).
3. La administración parenteral de vacunas con virus inactivados, incluso cuando estimula la producción de anticuerpos circulantes (IgM, IgG) en concentraciones satisfactorias en ocasiones confiere protección limitada porque no se induce resistencia local (IgA) en el sitio natural de entrada o en el sitio primario de multiplicación de la infección viral natural; por ejemplo, nasofaringe para los virus respiratorios, tubo digestivo para el poliovirus (fig. 30-9 y caps. 36 y 39).
4. La respuesta celular a las vacunas de virus inactivados suele ser mala.
5. Algunas vacunas de virus inactivados inducen reacciones de hipersensibilidad a la infección subsiguiente, quizá por

CUADRO 30-8 Vacunas de virus aprobadas en Estados Unidos (2008)

Uso	Vacuna	Tipo	Sustrato celular
Común	Hepatitis A	Virus desactivado	Fibroblastos diploides humanos (MRC-5)
	Hepatitis B	Subunidades (HBsAg)	Levaduras (DNA recombinante)
	Influenza A y B	Desactivado	Embrión de pollo
	Influenza A y B	Vivo (intranasal)	Embrión de pollo
	Sarampión	Vivo	Fibroblastos de embrión de pollo
	Parotiditis	Vivo	Embrión de pollo y fibroblastos de embrión de pollo
	Papiloma	Subunidad (L 1)	Levaduras (DNA recombinante)
	Poliovirus (IPV)	Desactivado	Células renales de simio (células Vero)
	Poliovirus (OPV)	Vivo	Células renales de simio
	Rabia	Desactivado	Fibroblastos diploides humanos (MRC-5) o células diploides de pulmón de fetos de monos rhesus o fibroblastos de pollo
	Rotavirus[a]	Vivo	Células renales de simio (células Vero)
	Rubéola	Vivo	Fibroblastos diploides humanos (WI-38)
	Varicela	Vivo	Fibroblastos diploides humanos (MRC-5)
	Zoster	Vivo	Fibroblastos diploides humanos (MRC-5)
Situaciones especiales	Adenovirus[b]	Vivo	Fibroblastos diploides humanos (WI-38)
	Encefalitis japonesa[c]	Desactivado	Encéfalo murino
	Viruela	Vivo	Linfáticos de la pantorrilla
	Fiebre amarilla[c]	Vivo	Embrión de pollo

[a] La vacuna con rotavirus vivo se retiró del comercio en 1999 por su asociación con intususcepción en lactantes. La vacuna que se aprobó en el año 2006 era diferente y no se asociaba con intususcepción.

[b] Utilizada por el ejército estadounidense; ya no se encuentra disponible.

[c] Utilizada para viajes a regiones endémicas.

desequilibrio de la respuesta inmunitaria ante la exposición con los antígenos de superficie viral que no simulan la infección con el virus natural.

C. Vacunas con virus vivos atenuados

Las vacunas con virus vivos utilizan mutantes virales que presentan superposición antigénica con el virus silvestre pero se encuentran restringidas en algunos pasos en la patogenia de la enfermedad (cuadro 30-9).

Se desconoce la base genética para la atenuación de la mayor parte de las vacunas con virus, porque se seleccionan en forma empírica mediante pasos seriados en animales o cultivos celulares (por lo común de una especie diferente al hospedador natural). Conforme más se conozca acerca de los genes virales que participan en la patogenia de la enfermedad, se podrán elaborar posibles virus vacunales mediante ingeniería genética en el laboratorio.

Las vacunas de virus vivos atenuados tienen la ventaja de que actúan de manera similar a la infección natural con respecto a sus efectos sobre la inmunidad. Se multiplican en el hospedador y tienden a estimular una producción duradera de anticuerpos, inducen una respuesta celular adecuada y la producción de anticuerpos y de resistencia en el sitio de entrada (fig. 30-9).

Las desventajas de las vacunas de virus vivos atenuados incluyen:

1. El riesgo de reversión a un estado de mayor virulencia durante la multiplicación después de la aplicación de la vacuna. Aunque no se ha demostrado que la reversión sea un problema en la práctica, existe en potencia.
2. Los agentes extraños no identificados que producen infección latente en el sustrato de cultivo (huevo, cultivos celulares primarios) pueden entrar en la vacuna. Los virus que se han encontrado en vacunas incluyen virus de la leucosis aviar, poliomavirus SV40 de los simios y citomegalovirus de los simios. El problema de contaminantes extraños puede superarse con el uso de células normales con propagación seriada en cultivo (p. ej., líneas de células diploides humanas) como el sustrato para el cultivo de los virus vacunales.
3. El almacenamiento y el tiempo de anaquel limitado de las vacunas de virus vivos atenuados representa un problema, pero puede superarse en algunos casos con el uso de estabilizadores virales (p. ej., $MgCl_2$ para la vacuna de la polio).
4. La interferencia por coinfección con virus silvestre, natural, puede inhibir la replicación del virus vacunal y disminuye su eficacia. Esto se ha observado con cepas de poliovirus vacunal, que pueden inhibirse por infecciones concomitantes con diversos enterovirus.

D. Uso apropiado de las vacunas

Debe hacerse énfasis en un hecho: una vacuna eficaz no protege contra la enfermedad hasta que se administra en la dosis apropiada a individuos susceptibles. La incapacidad para alcanzar todos los sectores de la población con ciclos completos de vacunación se refleja en la aparición continua de sarampión en personas no vacunadas. Los niños preescolares en áreas pobres son los grupos con vacunación menos adecuada en Estados Unidos.

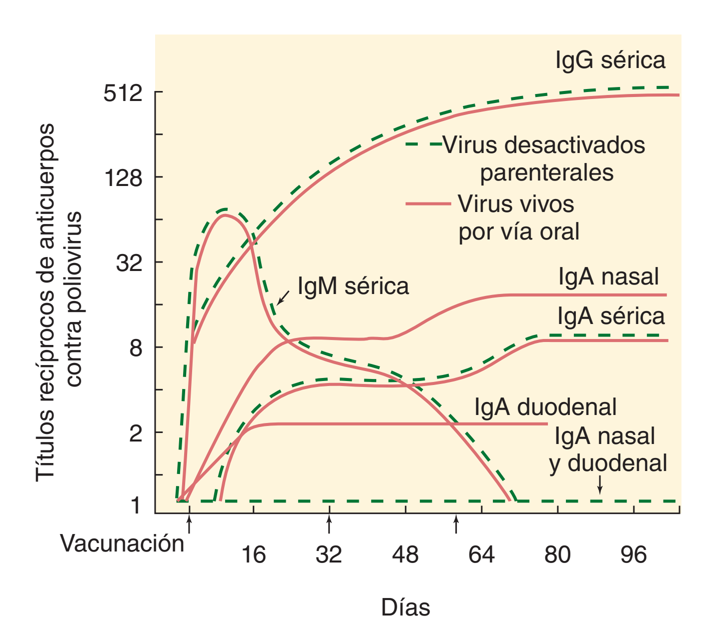


FIGURA 30-9. Respuesta sérica y de secreción de anticuerpos a la administración oral de vacuna de poliovirus vivo atenuado y a la inoculación intramuscular de vacuna de virus de polio desactivados. (Reproducida con autorización de Ogra PL et al: Rev Infect Dis 1980;2:352.)

Ciertas vacunas de virus se recomiendan para su uso en la población general, en tanto que otras se recomiendan sólo para su uso en personas con riesgo especial a causa de sus ocupaciones, viajes o estilo de vida. En términos generales, las vacunas con virus vivos están contraindicadas en mujeres embarazadas.

Existe la posibilidad teórica que la respuesta de anticuerpos disminuya o interfiera con la respuesta que podría ocurrir si dos o más vacunas de virus vivos se administran al mismo tiempo. Sin embargo, en la práctica la administración simultánea de vacunas de virus vivos puede ser segura y eficaz. La vacuna oral equivalente de poliovirus o la vacuna con virus vivos combinados de sarampión, parotiditis y rubéola es eficaz. La respuesta de anticuerpos a cada componente de estas vacunas en combinación es comparable con la respuesta de anticuerpos a las vacunas individuales administradas por separado.

E. Prospectos a futuro

La biología molecular y las tecnologías modernas han combinado estos métodos novedosos para el desarrollo de vacunas. Muchos de ellos evitan la incorporación de ácido nucleico viral en el producto final, con lo que se mejora la seguridad de la vacuna. A continuación se enumeran algunos ejemplos de lo que está ocurriendo en este campo. Aún debe establecerse el éxito final de estos nuevos métodos.

1. Uso de técnicas de DNA recombinante para insertar genes que codifican proteínas de interés en el genoma de un virus no virulento, que puede administrarse en forma de vacuna (p. ej., virus de vaccinia).
2. Incluir en la vacuna sólo aquellos componentes subvirales necesarios para estimular la producción de anticuerpos protectores, con lo que se reduce la aparición de reacciones adversas a la vacuna.
3. Uso de proteínas purificadas aisladas de virus purificados o la síntesis de genes clonados (vacuna de virus de la hepatitis B recombinante que contenga proteínas virales sintetizadas en células de levadura). La expresión de genes clonados en ocasiones da origen a la formación de partículas virales vacías.
4. Uso de péptidos sintéticos que corresponden a determinantes antigénicos en las proteínas virales, con lo que se evita la posibilidad de reversión a un estado de virulencia puesto que no existe ácido nucleico viral; sin embargo la respuesta inmunitaria inducida por péptidos sintéticos es mucho más débil que la inducida por proteínas intactas.
5. Desarrollo de vacunas comestibles, método en el cual plantas transgénicas sintetizarían antígenos de virus patógenos, lo que constituiría un método nuevo, rentable para la aplicación de vacunas.
6. Uso de vacunas con DNA desnudo, un método potencialmente simple, poco costoso y seguro, por medio del cual los plásmidos recombinantes portan el gen para la proteína de interés y se inyectan en el hospedador, con lo que el DNA produciría las proteínas que darían origen al estado de inmunidad.
7. La administración de vacunas en forma local estimularía la producción de anticuerpos en el sitio de entrada (como las vacunas en aerosol para los virus que causan enfermedades respiratorias).

CUADRO 30-9 Comparación de las características de las vacunas de virus desactivados y vivos

Características	Vacuna de virus desactivados	Vacuna de virus vivos
Número de dosis	Varias	Única
Necesidad de adyuvante	Sí	No
Duración de la inmunidad	Más corta	Más prolongada
Eficacia de la protección (simulación más cercana a la infección natural)	Menor	Mayor
Producción de inmunoglobulinas	IgG	IgA e IgG
Producción de inmunidad de mucosas	Mala	Sí
Produce inmunidad celular	Mala	Sí
Virus virulentos residuales en la vacuna	Posible	No
Reversión a un estado de virulencia	No	Posible
Interferencia con otros virus en el hospedador	No	Posible
Estabilidad en la temperatura ambiental	Alta	Baja

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Los interferones son parte importante de las defensas del hospedador contra infecciones virales. ¿Cuál es el principal modo de acción de los interferones?
   (A) Se encuentran presentes en el suero de individuos sanos, con funciones de vigilancia para infecciones virales
   (B) Cubren las partículas virales y bloquean su unión a las células

(C) Inducen la síntesis de una o más proteínas celulares que inhiben la traducción o transcripción
(D) Protegen a la célula infectada por virus producido por la muerte celular

2. Una niña de nueve meses de edad es llevada la sala de urgencias por fiebre y tos persistente. A la exploración física se auscultan estertores en el hemitórax izquierdo. En la radiografía de tórax se observa un infiltrado en el pulmón izquierdo. Se diagnostica neumonía. ¿Cuál de las siguientes es la causa más probable?
(A) Rotavirus
(B) Rinovirus
(C) Adenovirus
(D) Virus sincitial respiratorio
(E) Coxsackie virus

3. ¿Cuál de los siguientes es un principio fundamental de la causa de enfermedades virales?
(A) Un tipo de virus induce un solo síndrome de enfermedades
(B) Muchas infecciones virales son subclínicas y no producen enfermedad clínica
(C) El tipo de enfermedad producida por el virus puede predecirse con base en la morfología del mismo
(D) Un síndrome patológico en particular es causado sólo por un virus

4. La piel es una barrera impenetrable para la penetración del virus, pero unos cuantos virus son capaces de atravesar esta barrera e iniciar la infección en el hospedador. ¿Cuál de los siguientes es un ejemplo de virus que penetran a través de abrasiones cutáneas?
(A) Adenovirus
(B) Rotavirus
(C) Rinovirus
(D) Papilomavirus
(E) Virus de la influenza

5. Un varón de 40 años de edad tiene VIH/sida que se caracteriza por un recuento bajo de células CD4 y carga viral alta. Se inició tratamiento antirretroviral de alta actividad (HAART). Uno de los fármacos en consideración es un análogo nucleósido que inhibe la transcriptasa inversa y tiene actividad contra VIH y HBV. ¿Cuál es el fármaco?
(A) Aciclovir
(B) Amantadina
(C) Ribavirina
(D) Saquinavir
(E) Lamivudina
(F) Fuzeon

6. Con respecto a los pacientes con VIH/sida mencionados en la pregunta 5, un fármaco peptidomimético que bloquea el desdoblamiento de los precursores de las proteínas virales estructurales suele elegirse como segundo fármaco. Este fármaco es:
(A) Aciclovir
(B) Amantadina
(C) Ribavirina
(D) Saquinavir
(E) Lamivudina
(F) Fuzeon

7. Una mujer de 63 años se hospitaliza para tratamiento de leucemia. Un día después de su hospitalización presenta fiebre, tos, cefalea y mialgias. La paciente comenta que su cónyuge tiene una enfermedad similar que inició unos cuantos días antes. Existe una preocupación importante con respecto a un brote epidémico de afección respiratoria por virus en el área hospitalaria de quimioterapia y en los pacientes que se encuentran hospitalizados. Para la profilaxis en el personal y en los pacientes se elige una amina sintética que inhibe el virus de la influenza A al bloquear la pérdida de la cubierta viral. El fármaco es
(A) Aciclovir
(B) Amantadina
(C) Ribavirina
(D) Saquinavir
(E) Lamivudina
(F) Fuzeon

8. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones describe las ventajas de las vacunas de virus inactivados en comparación con las vacunas de virus vivos atenuados?
(A) Las vacunas de virus inactivados inducen una amplia gama de respuestas inmunitarias en comparación con las vacunas de virus vivos atenuados
(B) Las vacunas de virus inactivados simulan más estrechamente las infecciones naturales que las vacunas de virus vivos atenuados
(C) Las vacunas de virus inactivados no conllevan el riesgo de que la vacuna pudiera transmitir la enfermedad a los contactos susceptibles
(D) Las vacunas de virus inactivados son eficaces contra infecciones virales respiratorias porque inducen buena respuesta inmunitaria en las mucosas

9. ¿Qué tipo de vacuna contra hepatitis B se utiliza a la fecha en Estados Unidos?
(A) Vacuna de péptidos sintéticos
(B) Vacuna de virus inactivados
(C) Vacuna de virus vivos atenuados
(D) Vacuna de subunidades producidas utilizando tecnología de DNA recombinante

10. ¿Cuál de las siguientes frases describe con precisión a los anticuerpos neutralizantes de virus?
(A) Se dirigen contra determinantes de las proteínas virales en el exterior de la partícula viral
(B) Aparecen en el hospedador después de la infección viral antes que el interferón
(C) Se dirigen contra secuencias del ácido nucleico viral
(D) Es inducida sólo por virus que causan la enfermedad
(E) Tienen poca importancia en la respuesta inmunitaria a la infección viral

11. Muchos virus utilizan el aparato respiratorio como vía de entrada para el inicio de infecciones. ¿Cuál de los siguientes grupos de virus no utiliza esta vía?
(A) Adenovirus
(B) Coronavirus
(C) Hepadnavirus
(D) Paramixovirus
(E) Poxvirus

12. ¿Cuál de las siguientes vacunas de virus autorizadas se prepara con subunidades utilizando la tecnología de DNA recombinante?
(A) Sarampión-parotiditis-rubéola
(B) Varicela
(C) Hepatitis A
(D) Papilomavirus
(E) Rotavirus
(F) Rabia

13. ¿Cuál de los siguientes virus es la causa más común de infecciones neonatales en Estados Unidos?
(A) Rubéola
(B) Parvovirus B19
(C) Hepatitis B
(D) Citomegalovirus
(E) Varicela
(F) VIH

Respuestas

1. C	5. E	9. D	13. D
2. D	6. D	10. A	
3. B	7. B	11. C	
4. D	8. C	12. D	

BIBLIOGRAFÍA

Ada G: Vaccines and vaccination. N Engl J Med 2001;345:1042. [PMID: 11586958]

Alcami A, Koszinowski UH: Viral mechanisms of immune evasion. Trends Microbiol 2000;8:410. [PMID: 10989308]

Bonjardim CA: Interferons (IFNs) are key cytokines in both innate and adaptive antiviral immune responses—and viruses counteract IFN action. Microbes and Infection 2005;7:569. [PMID: 15792636]

Bonthius DJ, Perlman S: Congenital viral infections of the brain: Lessons learned from lymphocytic choriomeningitis virus in the neonatal rat. PLoS Pathogens 2007;3:e149. [PMID: 18052527]

Centers for Disease Control and Prevention. General recommendations on immunization. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2006;55(No. RR-15).

Centers for Disease Control and Prevention. Recommended childhood and adolescent immunization schedule—United States, 2006. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2006;54(Nos. 51 & 52).

Espy MJ et al: Real-time PCR in clinical microbiology: Applications for routine laboratory testing. Clin Microbiol Rev 2006;19:165. [PMID: 16418529]

Hawley RJ, Eitzen EM Jr: Biological weapons—a primer for microbiologists. Annu Rev Microbiol 2001;55:235. [PMID: 11544355]

Immunization of health-care workers: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) and the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1997;46 (RR-18):1.

Pereira L, Maidji E, McDonagh S, Tabata T: Insights into viral transmission at the uterine-placental interface. Trends Microbiol 2005;13:164. [PMID: 15817386]

Plotkin SA: Correlates of vaccine-induced immunity. Clin Infect Dis 2008;47:401. [PMID: 18558875]

Preventing emerging infectious diseases: A strategy for the 21st century. Overview of the updated CDC plan. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1998;47 (RR-15):1.

Randall RE, Goodbourn S: Interferons and viruses: An interplay between induction, signalling, antiviral responses and virus countermeasures. J Gen Virol 2008;89:1. [PMID: 18089727]

Virgin S: Pathogenesis of viral infection. In: *Fields Virology,* 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.



CAPÍTULO

31

Parvovirus

Los parvovirus son los virus de animales con DNA más simples. Por la pequeña capacidad de codificación de su genoma, la replicación viral depende de las funciones suministradas por la célula hospedadora o por los virus auxiliadores coinfectantes. El parvovirus B19 es patógeno para seres humanos y tiene tropismo para células progenitoras eritroides. Es la causa de eritema infeccioso ("quinta enfermedad"), un exantema común en la infancia; de síndrome de poliartralgias-artritis en adultos sanos; de crisis aplásica en pacientes con trastornos hemolíticos; de anemia crónica en individuos con inmunodepresión y de muerte fetal. Un parvovirus descubierto en fechas recientes, el bocavirus humano, se ha detectado en muestras del aparato respiratorio de niños con enfermedad respiratoria aguda, pero aún no se ha demostrado su participación en procesos patológicos.

PROPIEDADES DE LOS PARVOVIRUS

En el cuadro 31-1 se enumeran las propiedades importantes de los parvovirus. Cabe hacer notar que hay parvovirus que se replican en forma autónoma y virus defectuosos.

Estructura y composición

Son virus icosaédricos, sin envoltura con un diámetro de 18 a 26 nm (fig. 31-1). Las partículas tienen un peso molecular de 5.5 a 6.2×10^6, con una densidad de 1.39 a 1.42 g/cm^3 y una $S_{20,w}$ de 110 a 122. Los viriones son extremadamente resistentes a la desactivación. Son estables a un pH entre 3 y 9 y toleran temperaturas de 56°C por 60 min, pero pueden ser desactivados por formol, propiolactona-β y agentes oxidantes.

Los viriones contienen dos cubiertas proteínicas que son codificadas por una superposición en la secuencia del marco de DNA, de forma que VP2 tiene una secuencia idéntica que la porción carboxilo de VP1. La principal proteína de la cápside, VP2, constituye casi 90% de las proteínas del virión. El genoma consiste en DNA lineal, de una sola tira (cadena) de casi 5 kb. El parvovirus B19 es un virus autónomo que contiene 5 596 nucleótidos, en tanto que AAV-2 es un parvovirus defectuoso que contiene 4 680 bases. Los parvovirus autónomos por lo común recubren tiras de DNA complementario con el mRNA viral; los virus defectuosos tienden a rodear tiras de DNA de ambas polaridades con la misma frecuencia en viriones separados.

Clasificación

Hay dos subfamilias de Parvoviridae: **Parvovirinae**, que infecta vertebrados y **Densovirinae,** que infecta insectos. La subfamilia Parvovirinae abarca varios géneros. El parvovirus B19 humano es el miembro más común del género *Erythrovirus*. En fechas recientes se identificaron en seres humanos dos nuevos tipos de genotipos humanos (tipos 2 y 3; cepas K71 y V9, respectivamente), cada una de las cuales difiere casi 10% de la secuencia de nucleótidos de B19 (tipo 1). El bocavirus humano pertenece al género *Bocavirus*. El virus de la panleucopenia felina y el parvovirus canino son causas de enfermedades veterinarias graves y se clasifican como miembros del género *Parvovirus,* ya que se aíslan de muchos otros animales. El género *Dependovirus* contiene miembros defectuosos y que dependen de virus auxiliadores (adenovirus o herpesvirus) para su replicación. Los virus "adenorrelacionados" no se asocian con ninguna enfermedad.

Replicación de parvovirus

En la figura 31-2 se resume el ciclo de replicación del parvovirus B19 humano. Es esencial la proteína NS1 viral, no estructural.

CUADRO 31-1 Propiedades importantes de los parvovirus

Virión: icosaédrico, diámetro de 18 a 26 nm, 32 capsómeros
Composición: DNA (20%), proteínas (80%)
Genoma: DNA de una sola tira, lineal, de 5.6 kb, peso molecular 1.5 a 2.0 millones de daltons
Proteínas: una principal (VP2) y una menor (VP1)
Envoltura: ninguna
Replicación: en el núcleo, depende de las funciones de división de las células hospedadoras
Características sobresalientes: Virus muy simples Patógeno para seres humanos; el virus B19 tiene tropismo por las células progenitoras eritropoyéticas Un género presenta defectos en su replicación y requiere de un virus auxiliador

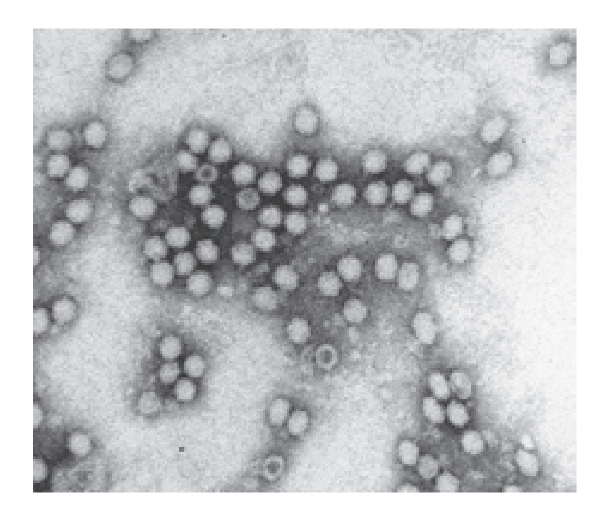


FIGURA 31-1 Micrografía electrónica de partículas de parvovirus. (Cortesía de FA Murphy y EL Palmer.)

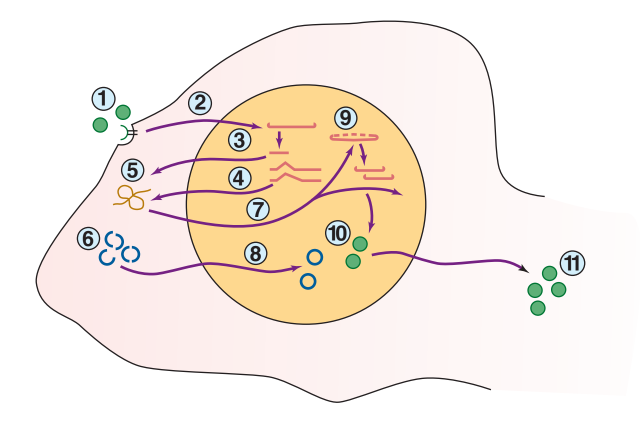


FIGURA 31-2 Ciclo vital del parvovirus B19. **1**. Unión al antígeno P del eritrocito y entrada a la célula; **2** translocación del DNA viral hacia el núcleo; **3** transcripción de RNA no estructural y **4** RNA proteínico de la cápside seguido de la traducción de proteínas. No es posible separarlos temporalmente del ensamble de las cápsides **6** y de la acción de proteínas no estructurales sobre el DNA viral **7, 8** translocación de la cápside hasta el núcleo, replicación del DNA viral **9**, **10** inserción del DNA en las cápsides intactas, y **11** liberación del virus y destrucción de la célula. (Reproducida con autorización de Young NS: Parvoviruses. En: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

El virus muestra un gran tropismo por las células eritroides humanas. El receptor celular para B19 es el antígeno del grupo sanguíneo P (globósido). El antígeno P se expresa en eritrocitos maduros, células progenitoras eritroides, megacariocitos, células endoteliales, placenta y en el corazón e hígado fetales, lo que ayuda a explicar el estrecho tropismo hístico del virus B19.

Los parvovirus dependen en gran medida de las funciones celulares para su replicación. La replicación de DNA viral ocurre en el núcleo. Es necesario que la célula hospedadora pase a través de la fase S, pero el parvovirus no tiene la capacidad de estimular a las células en reposo para el inicio de la síntesis de DNA; participan una o más polimerasas celulares de DNA y las secuencias terminales en el DNA lineal del parvovirus se utilizan como cebadores para el inicio de la síntesis de DNA. Existen dos proteínas de la cápside. La proteína no estructural es necesaria para la replicación del virus y puede ser importante en la patogenia de algunas enfermedades relacionadas con B19 al modular los genes de la célula hospedadora. La replicación viral causa la muerte celular.

INFECCIONES POR PARVOVIRUS EN SERES HUMANOS

Patogenia y anatomía patológica

La evolución típica de la infección por parvovirus B19 en humanos adultos se ilustra en la figura 31-3; este virus se ha implicado como agente causal de varias enfermedades (cuadro 31-2). Las células inmaduras en el linaje eritroide son los principales objetivos para el parvovirus B19 en seres humanos. Por tanto, los principales sitios de replicación del virus en pacientes adultos parecen ser la médula ósea y algunas células sanguíneas, y el hígado fetal. La replicación viral causa muerte celular, con interrupción de la producción de eritrocitos. En individuos con inmunodepresión pueden ocurrir infecciones persistentes por B19, dando origen a anemia crónica. En casos de muerte fetal, las infecciones crónicas pueden haber causado anemia grave en el feto.

Un parvovirus no defectuoso requiere la división de la célula hospedadora a fin de replicarse y por tanto las enfermedades conocidas por parvovirus muestran especificidad por los tejidos que afectan (fig. 31-4).

Después de infecciones por el virus B19 se producen anticuerpos específicos IgG e IgM contra el virus. En individuos con deficiencias inmunitarias ocurren infecciones persistentes por parvovirus, pues fallan en la síntesis de anticuerpos neutralizantes contra el virus, dando origen a anemia. La persistencia de concentraciones bajas de DNA de B19 y menos desarrollo de DNA virus tipo 2 se ha detectado en sangre, piel, amígdalas, hígado y tejidos sinoviales de voluntarios con buena respuesta inmunitaria. El exantema relacionado con el eritema infeccioso es al menos en parte mediado por complejos inmunitarios.

Puede encontrarse virus B19 en la sangre y secreciones respiratorias de individuos infectados. Se presume que la transmisión ocurre por vía respiratoria. No hay evidencia de eliminación del virus en heces o en orina. Los virus pueden transmitirse por vía parenteral a través de transfusiones sanguíneas o por hemoderivados infectados (concentrados de inmunoglobulinas y de factores de coagulación) y en forma vertical de la madre al feto. El virus B19 es resistente a los tratamientos que causa la desactivación de los virus envueltos y por tanto algunos concen-

CUADRO 31-2 Enfermedades humanas relacionadas con parvovirus B19[a]

Síndrome	Hospedador o enfermedad	Características clínicas
Eritema infeccioso	Niños (quinta enfermedad) Adultos	Exantema Artralgias-artritis
Crisis aplásica transitoria	Hemólisis subyacente	Anemia aguda grave
Aplasia pura de eritrocitos	Inmunodeficiencias	Anemia crónica
Hidropesía fetal	Feto	Anemia letal

[a]Modificado con autorización de Young NS: Parvoviruses. En: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al (editors). Lippincott-Raven, 1996.

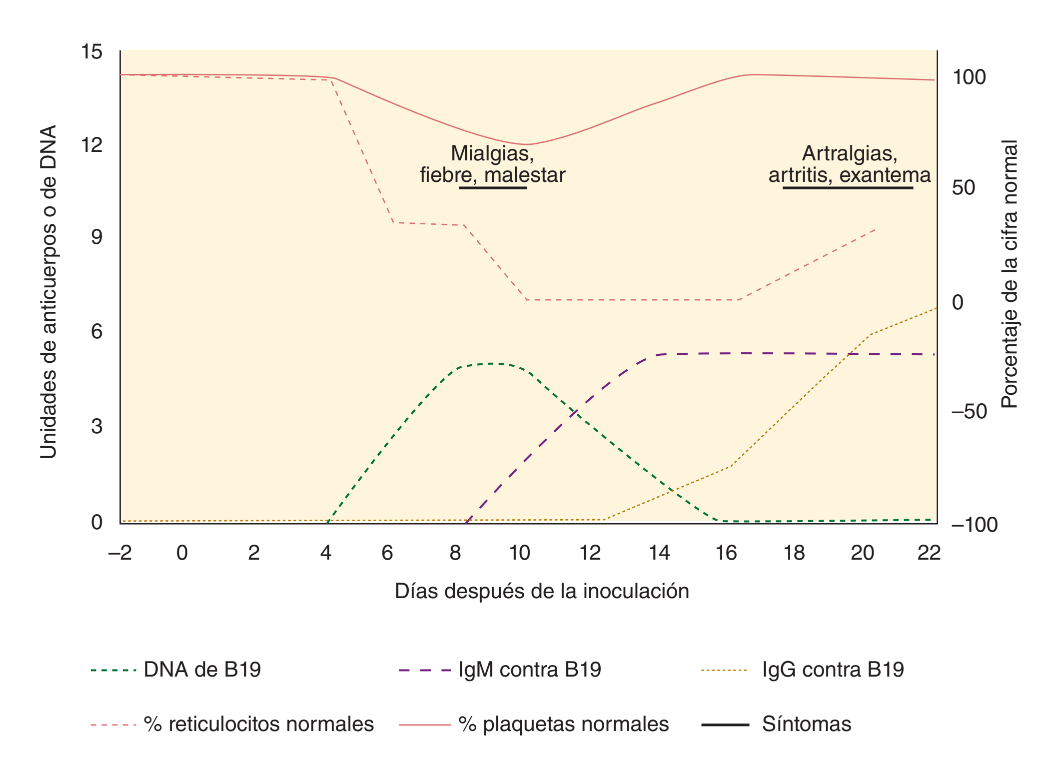


FIGURA 31-3 Manifestaciones clínicas y de laboratorio durante la evolución de la infección por parvovirus B19 humano en voluntarios adultos. La primera fase de la enfermedad, con síntomas similares a los de la gripe, coincide con la viremia (días 6 a 12); la segunda fase de la enfermedad consiste en la aparición de exantema casi en el día 18. (Reproducida con autorización de Anderson LJ: Human parvovirus B19. En: *Clinical Virology,* 2nd ed. Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG [editors]. ASM Press, 2002; datos tomados de Anderson MJ et al: Experimental parvoviral infection in humans. J Infect Dis 1985;152:257.)

trados de factores de coagulación permanecen contaminados. La prevalencia de anticuerpos contra B19 es más elevada en hemofílicos que en la población general; sin embargo, se desconoce la concentración mínima de virus en los hemoderivados capaz de causar la infección.

No se conoce la patogenia de la infección por bocavirus humano. Se ha encontrado en muestras obtenidas del aparato respiratorio y se supone que infecta el aparato respiratorio y se transmite por vía respiratoria. También se ha detectado en heces y en muestras de suero.

Varios parvovirus patógenos de animales se replican en las células de la mucosa intestinal y causan enteritis.

Manifestaciones clínicas

A. Eritema infeccioso (quinta enfermedad)

La manifestación más común de infección por parvovirus B19 humano es el eritema infeccioso, también conocido como quinta enfermedad. Es una enfermedad eritematosa que es más común en niños en edad escolar y que en ocasiones afecta a los adultos. El exantema por lo común tiene el aspecto típico de "mejillas abofeteadas" acompañado de síntomas generales leves. Se han descrito casos esporádicos y epidémicos. La afección articular es una característica prominente en los casos que se observan en adultos; con frecuencia se afectan las articulaciones de manos y rodillas. Los síntomas simulan artritis reumatoide y la artropatía puede persistir por semanas, meses o años.

El periodo de incubación suele ser de una a dos semanas pero puede extenderse hasta tres semanas. La viremia ocurre una semana después de la infección y persiste por casi cinco días. Durante el periodo de viremia, el virus se encuentra en muestras de lavado nasal y colutorios, lo que identifica a las vías respiratorias altas (con mayor probabilidad la faringe) como el sitio de diseminación viral. La primera fase de la enfermedad ocurre al final de la primera semana; los síntomas son similares a los de un resfrío, con fiebre, malestar, mialgias, escalofríos y prurito. El primer episodio de la enfermedad coincide con la viremia y reticulocitopenia y con la detección de complejos inmunitarios de IgM-parvovirus. Después de un periodo de incubación de casi 17 días inicia la segunda fase de la enfermedad. La aparición de un exantema facial eritematoso con patrón de encaje en las extremidades o el tronco puede acompañarse de síntomas articulares, en especial en adultos. La enfermedad es de corta duración, y el exantema cede después de dos a cuatro días, aunque los síntomas articulares pueden persistir por periodos más prolongados. Casi 15 días después de la infección aparecen anticuerpos específicos IgG.

B. Crisis aplásica transitoria

El parvovirus B19 es la causa de crisis aplásica transitoria que puede complicar a la anemia hemolítica crónica, por ejemplo en pacientes con drepanocitosis, talasemias y anemias hemolíticas adquiridas en adultos. La crisis aplásica transitoria puede ocurrir después del trasplante de médula ósea. El síndrome consiste en la interrupción súbita de la producción de eritrocitos en la médula ósea y se manifiesta con ausencia de precursores eritroides en la médula ósea, acompañada por un rápido deterioro de la anemia. La infección reduce la producción de eritrocitos, con reducción en la concentración de hemoglobina en la sangre periférica. La interrupción transitoria en la producción de eritrocitos

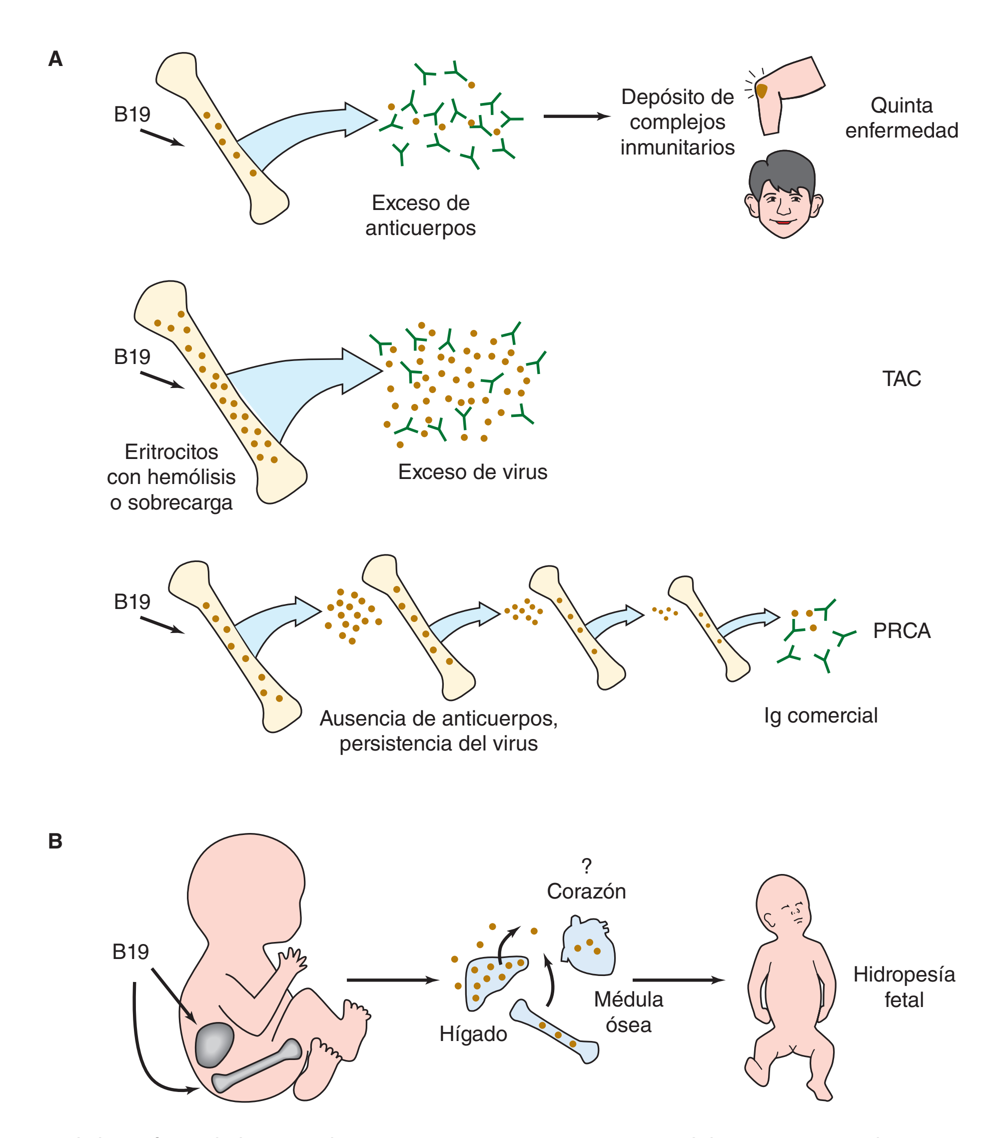


FIGURA 31-4 Patogenia de las enfermedades causadas por parvovirus B19. **A:** En niños y adultos. TAC, crisis aplásica transitoria; PRCA, aplasia pura de eritrocitos. **B:** En infecciones fetales. (Modificada con autorización de Young NS: Parvoviruses. En: *Fields Virology,* 3rd ed. Fields BN et al [editors] Lippincott-Raven, 1996.)

se hace aparente sólo en pacientes con anemia hemolítica crónica por la corta vida de los eritrocitos; no sería de esperarse que una interrupción de siete días en la eritropoyesis causara anemia detectable en una persona sana. Pocos individuos con anemia tienen exantema. Los síntomas de crisis aplásica transitoria ocurren durante la fase de viremia de la infección.

C. Infección por virus B19 en individuos con inmunodeficiencia

El virus B19 puede desarrollar infecciones persistentes y causar supresión crónica de médula ósea y anemia crónica en individuos con inmunodepresión. La enfermedad se denomina aplasia pura de eritrocitos; la anemia suele ser grave y el paciente depende de las hemotransfusiones. Se ha observado en poblaciones de pacientes con inmunodeficiencia congénita, cánceres, sida y después de trasplante de órganos.

D. Infección por B19 durante el embarazo

Las infecciones maternas con el virus B19 conllevan un riesgo grave para el feto, produciendo hidropesía fetal y muerte fetal por anemia grave. El riesgo general de la infección por parvovirus humano durante el embarazo es bajo; ocurre muerte fetal en menos de 10% de las infecciones maternas primarias. Con mayor frecuencia la muerte fetal ocurre antes de las 20 semanas de embarazo. Aunque hay transmisión intrauterina frecuente del parvovirus humano (se calcula que la transmisión vertical alcanza cifras de 30% o mayores) no hay evidencia de que la infección por B19 cause anomalías físicas. Puede ocurrir transmisión maternofetal más a menudo en mujeres embarazadas con cargas virales plasmáticas elevadas.

E. Infecciones respiratorias por bocavirus humano

Se ha detectado bocavirus humano en 1.5 a 11.3% de muestras obtenidas del aparato respiratorio de niños pequeños con infecciones respiratorias. Es prevalente en niños con cuadros respiratorios agudos manifestados con sibilancias. Sin embargo, el bocavirus a menudo se encuentra en infecciones mixtas con otros virus, de forma que no se ha aclarado si éste es la causa de enfermedad respiratoria aguda en niños.

Diagnóstico por laboratorio

La prueba más sensible es la detección de DNA viral. Las pruebas disponibles son la reacción en cadena de polimerasa, hibridación con sonda de extractos de suero o de tejidos e hibridación *in situ* de tejidos fijados. La reacción en cadena de polimerasa es el análisis más sensible. Se detecta DNA del virus B19 en suero, células sanguíneas, muestras de tejidos y secreciones respiratorias. Durante infecciones agudas las cargas virales en sangre pueden alcanzar casi 10^{11} copias de genoma/ml. La reacción en cadena de polimerasa para B19 puede pasar por alto cepas que no pertenecen a B19 por diferencias en la secuencia. El único análisis disponible hoy en día para el bocavirus humano es la reacción en cadena de polimerasa. Se ha encontrado DNA de bocavirus en suero, heces y muestras obtenidas del aparato respiratorio.

Los análisis serológicos basados en antígenos de parvovirus B19 obtenidos por recombinación y producidos *in vitro* utilizando sistemas de expresión bacterianos o de baculovirus se utilizan para medir los anticuerpos. Las partículas similares a las proteínas virales VP2 parecen ser el antígeno óptimo para la detección por pruebas con anticuerpos. La detección de anticuerpos IgM contra B19 indica infección reciente; están presentes por dos a tres meses después de la infección. Los anticuerpos IgG contra B19 dirigidos contra epitopos conformacionales en VP1 y VP2 persisten por años, aunque las respuestas por anticuerpos contra epitopos lineales disminuyen en unos cuantos meses después de la infección. Podrían no encontrarse anticuerpos en individuos con inmunodeficiencia con infecciones crónicas por B19. En tales pacientes las infecciones crónicas se diagnostican al detectar DNA viral.

Los análisis de detección de antígenos pueden identificar títulos elevados de virus B19 en muestras clínicas. Se han utilizado métodos de inmunohistoquímica para detectar antígenos B19 en tejidos fetales y en la médula ósea.

Los virus B19 humano y bocavirus humano son difíciles de cultivar. No se utiliza el aislamiento del virus para detectar la infección.

Epidemiología

El virus B19 tiene distribución amplia. Pueden ocurrir infecciones a lo largo de todo el año, en todos los grupos de edad y en forma de brotes epidémicos o como casos esporádicos. Las infecciones se observan más a menudo como brotes epidémicos en escuelas. La infección por parvovirus es común en niños; más a menudo se desarrollan anticuerpos entre los cinco y 19 años de edad. Hasta 60% de todos los adultos y 90% de las personas de edad avanzada son seropositivos.

La infección por virus B19 parece transmitirse por el aparato respiratorio. Los virus son estables en el medio ambiente y las superficies contaminadas también participan en la transmisión. La transferencia entre hermanos y en niños en escuelas y guarderías es la principal vía de transmisión. La fuente de infecciones maternas durante el embarazo a menudo es la madre del niño. Muchas infecciones son subclínicas y se calcula que las tasas de ataque en contacto susceptibles varía de 20 a 50%.

Se ha documentado la transmisión del virus B19 a partir de pacientes con crisis aplásica al personal sanitario. Los pacientes con crisis aplásica podrían ser infecciosos durante la evolución de su enfermedad, en tanto que los individuos con quinta enfermedad probablemente ya no infecten al momento de la aparición del exantema.

No se cuenta con datos epidemiológicos del bocavirus humano. Se ha encontrado en niños pequeños y parece tener una distribución global.

Tratamiento

La quinta enfermedad y la crisis aplásica transitoria deben recibir tratamiento sintomático. Para esta última podría ser necesaria la hemotransfusión.

Las preparaciones comerciales de inmunoglobulina contienen anticuerpos neutralizantes contra parvovirus humano. En ocasiones pueden aminorar infecciones persistentes por B19 en individuos con inmunodepresión y en aquellos con anemia.

No hay tratamiento para las infecciones por bocavirus humano.

Prevención y control

No existe una vacuna contra el parvovirus humano, aunque se han desarrollado buenos prospectos de ésta. Hay vacunas eficaces contra parvovirus animales para su uso en gatos, perros y cerdos; no se cuenta con tratamiento antiviral.

Las buenas prácticas higiénicas, como el lavado de manos y no compartir bebidas deben ayudar a prevenir la diseminación del virus B19 a través de secreciones respiratorias, aerosoles y fómites. Las prácticas estándar para control de infecciones deben seguirse para evitar la transmisión del virus B19 al personal sanitario a partir de pacientes con crisis aplásica en individuos con inmunodeficiencia con infección crónica por virus B19.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿Cuál de las siguientes respuestas describe mejor las propiedades fisicoquímicas de los parvovirus?
   (A) Son partículas de virus envueltos
   (B) Genoma con DNA de una sola tira
   (C) Se inactiva su infectividad con el tratamiento
   (D) El virión muestra simetría helicoidal
   (E) El virión tiene casi el mismo tamaño que el herpesvirus
2. Un niño de ocho años de edad sufre en fechas recientes eritema infeccioso. Su madre de 33 años de edad desarrolló más tarde artralgias seguidas de artritis dolorosa con hinchazón en las articulaciones pequeñas de ambas manos. Además del aparente tropismo para las articulaciones, ¿por cuál tipo celular muestra un gran tropismo el parvovirus B19?
   (A) Linfocitos T CD4
   (B) Células del túbulo renal
   (C) Células eritroides
   (D) Células de la glía
   (E) Placas de Peyer
3. El niño de ocho años de la pregunta 2 tuvo una enfermedad con más de una fase. ¿Cuáles de los síntomas coinciden con la segunda fase de la enfermedad?
   (A) Faringodinia
   (B) Exantema cutáneo
   (C) Cefalea
   (D) Diarrea
   (E) Tos

4. Un varón de 42 años de edad con VIH/sida acudió con anemia aplásica. Utilizando reacción en cadena de polimerasa se detectó infección por parvovirus B19 en suero. El paciente probablemente adquirió su infección por parvovirus B19 de otra persona. La vía más probable de transmisión es
   (A) Por contacto con secreciones respiratorias
   (B) Por contacto con un exantema
   (C) A través de actividad sexual
   (D) A través de hemotransfusiones recientes
5. ¿Cuál de las siguientes es una enfermedad en la que no se ha establecido la participación del parvovirus B19?
   (A) Eritema infeccioso (quinta enfermedad)
   (B) Crisis aplásica transitoria
   (C) Hidropesía fetal
   (D) Hepatitis fulminante
6. ¿Cuál de las siguientes frases describe mejor la replicación del parvovirus B19 humano?
   (A) Estimula la proliferación de las células en reposo
   (B) Utiliza el antígeno del grupo sanguíneo P como receptor celular
   (C) Causa con facilidad infecciones persistentes
   (D) La totalidad del ciclo de replicación ocurre en el citoplasma
   (E) La producción de la progenie infecciosa requiere la presencia de un virus auxiliador
7. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es más precisa con respecto a las preocupaciones por la infección en el ser humano por parvovirus B19?
   (A) El parvovirus B19 se transmite con facilidad a través de relaciones sexuales
   (B) Los pacientes con enfermedad diseminada causada por parvovirus B19 deben tratarse con aciclovir
   (C) El parvovirus B19 no causará ninguna enfermedad en seres humanos
   (D) No hay vacuna para parvovirus humano
8. El bocavirus humano es un parvovirus descubierto en fechas recientes. ¿En qué tipo de muestra se detecta con mayor frecuencia?
   (A) Orina
   (B) Sangre de cordón
   (C) Secreciones respiratorias
   (D) Hígado fetal
   (E) Médula ósea
9. ¿Cuál de los siguientes se encuentra disponible como tratamiento o medida preventiva para las infecciones por parvovirus B19?
   (A) Inmunoglobulinas comerciales
   (B) Vacunas que contienen antígenos virales recombinantes VP2
   (C) Trasplante de médula ósea
   (D) Fármacos antivirales que bloquean la interacción entre virus-receptor

Respuestas

1. B	4. A	7. D
2. C	5. D	8. C
3. B	6. B	9. A

BIBLIOGRAFÍA

Allander T et al: Human bocavirus and acute wheezing in children. Clin Infect Dis 2007;44:904. [PMID: 17342639]

Azzi A, Morfini M, Mannucci PM: The transfusion-associated transmission of parvovirus B19. Transfusion Med Rev 1999;13:194. [PMID: 10425692]

Corcoran A, Doyle S: Advances in the biology, diagnosis, and host-pathogen interactions of parvovirus B19. J Med Microbiol 2004;53:459. [PMID: 15150324]

Faisst S, Rommelaere J (editors): Parvoviruses: From Molecular Biology to Pathology and Therapeutic Uses. Karger, 2000.

Magro CM, Dawood MR, Crowson AN: The cutaneous manifestations of human parvovirus B19 infection. Hum Pathol 2000;31:488. [PMID: 10821497]

Norja P et al: Bioportfolio: Lifelong persistence of variant and prototypic erythrovirus DNA genomes in human tissue. Proc Natl Acad Sci USA 2006;103:7450. [PMID: 16651522]

Saldanha J et al: Establishment of the first World Health Organization International Standard for human parvovirus B19 DNA nucleic acid amplification techniques. Vox Sang 2002;82:24. [PMID: 11856464]

CAPÍTULO

32

Adenovirus

Los adenovirus se pueden replicar y producir enfermedad en los aparatos respiratorio, digestivo y urinario, así como en el ojo. Muchas infecciones por adenovirus son leves y el virus puede persistir en el huésped durante meses. Aproximadamente un tercio de los 51 serotipos humanos conocidos interviene en la mayoría de los casos de infecciones humanas por adenovirus. Algunos tipos sirven de modelos para provocar cáncer en animales. Los adenovirus son sistemas muy valiosos para estudios moleculares y bioquímicos de los procesos que ocurren en las células eucariotas.

PROPIEDADES DE LOS ADENOVIRUS

En el cuadro 32-1 se presentan propiedades importantes de los adenovirus.

Estructura y composición

Los adenovirus tienen un diámetro de 70 a 90 nm y muestran una simetría icosaédrica con cápsides que constan de 252 capsómeros. No tienen envoltura. Entre los virus icosaédricos, los adenovirus tienen la singularidad de contar con una estructura denominada “fibra” que se proyecta desde cada uno de los 12 vértices, o bases de pentona (figs. 32-1 y 32-2). El resto de la cápside consta de 240 capsómeros de hexonas. Las hexonas, las pentonas y las fibras constituyen los principales antígenos de adenovirus importantes en la clasificación de los virus y el diagnóstico de las enfermedades.

El genoma de DNA (26 a 45 kbp) es lineal y bicatenario. Se conocen todas las secuencias de DNA de los genomas de muchos adenovirus. El genoma viral tipo 2 contiene 36 000 pares de bases. El contenido de guanina más citosina del DNA es menor (48 a 49%) en los adenovirus del grupo A (tipos 12, 18 y 31), los tipos con más potencia oncógena, y llega hasta 61% en otros tipos. Este es un criterio utilizado para la clasificación de las cepas humanas. El DNA viral contiene una proteína codificada por el virus que tiene un enlace covalente con cada extremo 5′ del genoma lineal. El DNA puede aislarse en una forma infecciosa y la relativa infecciosidad de ese DNA se reduce por lo menos 100 veces si se retira la proteína terminal mediante proteólisis. El DNA está condensado en el centro del virión; una proteína codificada por el virus, polipéptido VII (fig. 32-2B), es importante para formar la estructura central.

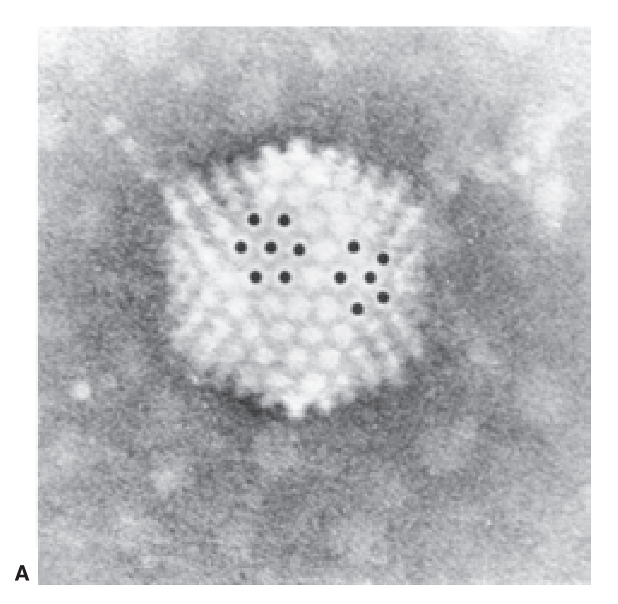
Se estima que existen 11 proteínas de viriones. En la figura 32-2B se muestran sus posiciones estructurales en el virión. Los capsómeros de hexona y de pentona son los principales componentes en la superficie de la partícula del virus. Hay epitopos específicos de grupo y de tipo en los polipéptidos de hexona y fibra. Todos los adenovirus humanos muestran esta antigenicidad común de la hexona. Las pentonas se encuentran en los 12 vértices de la cápside y tienen fibras que se proyectan a partir de ella. La base de pentona tiene una actividad parecida a la de una toxina que produce la aparición rápida de efectos citopáticos y desprendimiento de las células de la superficie en la cual están creciendo. Otro antígeno reactivo de grupo se pone de manifiesto por la base de pentona. Las fibras contienen antígenos específicos que son importantes en la serotipificación. Las fibras se relacionan con una actividad hemaglutinante. Puesto que la hemaglutinina es específica, suelen utilizarse pruebas de HI para tipificar las cepas. Sin embargo, es posible recuperar cepas que son recombinantes y dan reacciones discordantes en los análisis de Nt y HI.

Clasificación

Se han obtenido adenovirus de una amplia variedad de especies y se han clasificado en cuatro géneros. Todos los adenovirus humanos se clasifican en el género *Mastadenovirus.* Se han aislado por lo menos 51 tipos antigénicos distintos de seres humanos y muchos otros tipos de diversos animales.

CUADRO 32-1 Propiedades importantes de los adenovirus

Virión: Icosaédrico de 70 a 90 nm de diámetro, 252 capsómeros; la fibra se proyecta desde cada vértice
Composición: DNA (13%), proteína (87%)
Genoma: DNA bicatenario, lineal, 26 a 45 kbp, unido a proteína a extremo, infeccioso
Proteínas: Antígenos importantes (hexona, base de pentona, fibras) se relacionan con las principales proteínas externas de la cápside
Envoltura: Ninguna
Replicación: Núcleo
Características sobresalientes: Modelos excelentes para estudios moleculares de procesos de células eucariotas



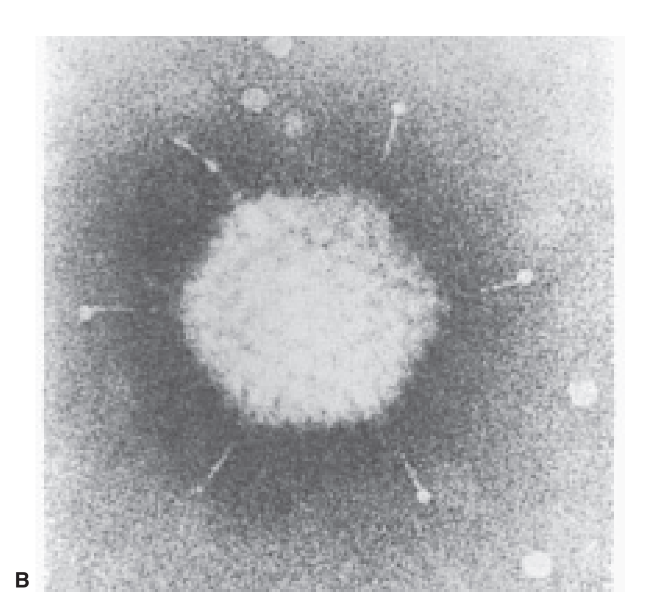
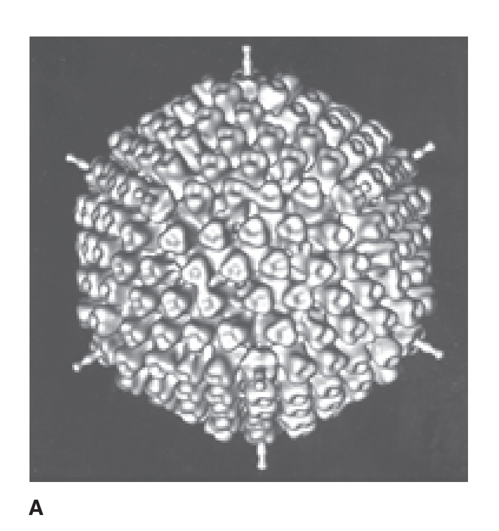


FIGURA 32-1 Microfotografías electrónicas de adenovirus. **A:** La partícula viral muestra una simetría cúbica y no tiene envoltura. Están marcados con puntos un capsómero de hexona (rodeado por seis hexonas idénticas) y un capsómero de pentona (rodeado por cinco hexonas). **B:** Obsérvense las estructuras de fibras que se proyectan desde los capsómeros de pentona del vértice (285 000×). (Reproducida con autorización de Valentine RC, Pereira HG: Antigens and structure of the adenovirus. J Mol Biol 1965;13:13.)



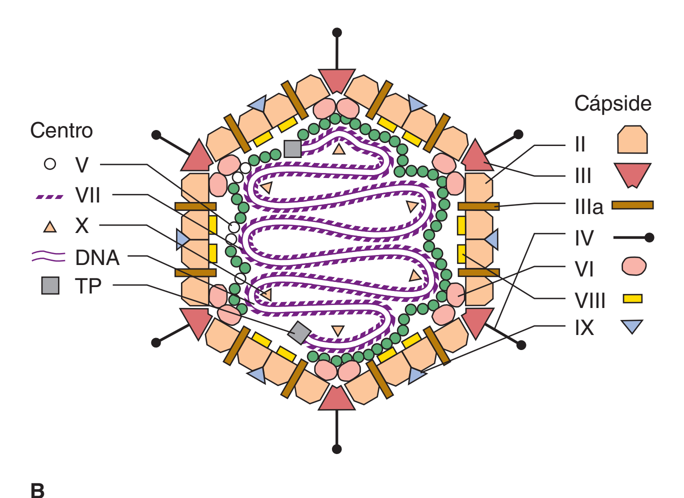


FIGURA 32-2 Modelos del virión del adenovirus. **A:** Una reconstrucción en imagen tridimensional de la partícula viral de adenovirus intacta vista a lo largo de un eje triple icosaédrico. (Reproducida con autorización de Stewart PL et al: Image reconstruction reveals the complex molecular organization of adenovirus. Cell 1991;67:145. Copyright © 1991 por Cell Press.) **B:** Una sección estilizada de la partícula de adenovirus que muestra componentes polipeptídicos y DNA. Ningún corte real del virión icosaédrico contendría todos los componentes. Los componentes del virión se designan por sus números de polipéptidos con la excepción de la proteína terminal (TP). (Reproducida con autorización de Stewart PL, Burnett RM: Adenovirus structure revealed by x-ray crystallography, electron microscopy and difference imaging. Jpn J Appl Phys 1993;32:1342.)

Los adenovirus humanos se dividen en seis grupos (A a F) con base en sus propiedades genéticas, físicas, químicas y biológicas (cuadro 32-2). Los adenovirus de un determinado grupo tienen fibras de una longitud característica, manifiestan una homología de DNA considerable (>85%, en comparación con <20% de los miembros de otros grupos) y manifiestan capacidades similares para aglutinar eritrocitos de monos o bien de ratas. Los miembros de un determinado grupo de adenovirus se parecen entre sí en el contenido de guanina-más-citosina de su DNA y en su potencial para producir tumores en roedores recién nacidos. Es importante que los virus de un grupo tiendan a tener un comportamiento similar con respecto a la diseminación epidemiológica y la relación con enfermedades.

Replicación de los adenovirus

Los adenovirus se replican bien sólo en las células de origen epitelial. El ciclo de replicación se divide drásticamente en eventos iniciales y tardíos. En la figura 32-3 se resume la expresión cuidadosamente regulada de los eventos sucesivos que tienen lugar en el ciclo de los adenovirus. La diferenciación entre los eventos iniciales y tardíos no es absoluta en las células infectadas; los

CUADRO 32-2 Esquemas de clasificación de adenovirus humanos

Grupo	Serotipos	Hemaglutinación: Grupo	Hemaglutinación: Resultado	Porcentaje de G + C[a] en DNA	Oncogenicidad: Potencial oncógeno *in vivo*[b]	Oncogenicidad: Transformación de las células
A	12, 18, 31	IV	Ninguno	48-49	Alto	+
B	3, 7, 11, 14, 16, 21, 34, 35, 50	I	Simio (completa)	50-52	Moderado	+
C	1, 2, 5, 6	III	Rata (parcial)	57-59	Escaso o nulo	+
D	8-10, 13, 15, 17, 19, 20, 22-30, 32, 33, 36-39, 42-49, 51	II	Rata (completa)	57-61	Escaso o nulo[c]	+
E	4	III	Rata (parcial)	57	Escaso o nulo	+
F	40, 41	III	Rata (parcial)	57-59	Escaso o nulo	+

[a]Guanina más citosina.

[b]Activación de tumor en hámsters recién nacidos.

[c]El adenovirus 9 puede activar tumores mamarios en ratas.

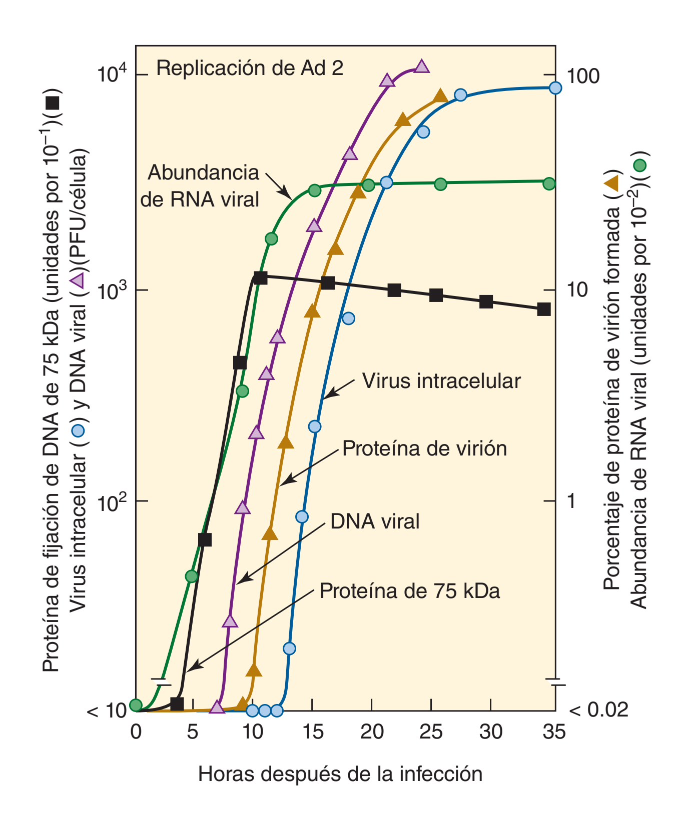


FIGURA 32-3 Evolución del ciclo de replicación del adenovirus. El tiempo transcurrido entre la infección y la primera aparición del virus de progenie es el periodo de eclipse. Obsérvese la regulación secuencial de eventos específicos en el ciclo de replicación del virus. "PFU" significa "unidad formadora de placa" (*plaque-forming unit*), una medida del virus infeccioso. (Cortesía de M Green.)

genes iniciales siguen expresándose durante todo el ciclo; algunos genes comienzan a expresarse en momentos "intermedios", y pueden observarse bajos grados de transcripción génica tardía poco después de la infección.

A. Adherencia, penetración y desenvoltura del virus

El virus se adhiere a las células a través de las estructuras de fibra. El receptor de la célula hospedadora para algunos serotipos es el receptor CAR (*coxsackie-adenovirus receptor*), un miembro de la superfamilia de genes de la inmunoglobulina. La interacción de la base de pentona con integrinas celulares después de la adherencia favorece el paso de interiorización. La adsorción y la interiorización son pasos diferentes en el proceso de infección por adenovirus, se requiere la interacción de proteínas de fibra y pentonas con diferentes proteínas efectoras de las células. El virus adsorbido es interiorizado hacia los endosomas; la mayor parte de las partículas (aproximadamente 90%) se desplaza rápidamente desde los endosomas hacia el citosol (semivida de aproximadamente cinco minutos) mediante un proceso desencadenado por el pH ácido del endosoma. Los microtúbulos probablemente intervienen en el transporte de partículas virales a través del citoplasma hacia el núcleo. La desenvoltura comienza en el citoplasma y concluye en el núcleo, y la liberación de DNA tal vez se presenta en la membrana nuclear. La desenvoltura es un proceso organizado y secuencial que de manera sistemática degrada las interacciones estabilizadoras que se instituyeron durante la maduración de la partícula del virus.

B. Eventos iniciales

Los pasos que ocurren antes del principio de la síntesis de DNA viral se definen como eventos iniciales. Las metas de los eventos iniciales son hacer que la célula hospedadora entre en la fase S del ciclo celular para crear las condiciones que conducen a la replicación viral, expresar las funciones virales que protegen a la célula infectada de los mecanismos de defensa del hospedador y sintetizar los productos génicos virales que se necesitan para la replicación del DNA viral.

Los primeros transcritos ("E") provienen de siete regiones muy separadas del genoma viral y de las dos cadenas de DNA viral. En las células infectadas con adenovirus se sintetizan más de 20 proteínas iniciales, muchas de las cuales son no estructurales

e intervienen en la replicación de DNA viral. El gen inicial E1A es muy importante; se debe expresar para que las otras regiones iniciales se transcriban. La modulación del ciclo celular se logra gracias a los productos del gen E1A. La región inicial E1B codifica proteínas que bloquean la muerte celular (apoptosis) que ocurre a consecuencia de las funciones de E1A; esto es necesario para prevenir la muerte celular prematura que afectaría de manera adversa los productos del virus. Las regiones E1A y E1B contienen los únicos genes de adenovirus que intervienen en la transformación celular; estos productos génicos se unen a las proteínas celulares (p. ej., pRb, p300, p53) que regulan la progresión del ciclo celular. Las proteínas iniciales están representadas por la proteína fijadora de DNA de 75 kDa que se muestra en la figura 32-3.

C. Replicación del DNA viral y de los eventos tardíos

La replicación del DNA viral tiene lugar en el núcleo. La proteína terminal codificada por el virus unida por un enlace covalente funciona como un cebador para comenzar la síntesis de DNA viral.

Los eventos tardíos comienzan al mismo tiempo que el inicio de la síntesis de DNA viral. El promotor tardío principal controla la expresión de los genes tardíos (“L”) que codifican la síntesis de proteínas estructurales del virus. Hay un solo transcrito primario de gran tamaño (aproximadamente 29 000 nucleótidos de longitud) que es procesado por corte y empalme para generar por lo menos 18 diferentes mRNA tardíos. Estos mRNA se agrupan (L1 a L5) con base en la utilización de sitios de adición poli(A) frecuentes. Los transcritos procesados son transportados al citoplasma, donde se sintetizan las proteínas virales.

Aunque los genes del hospedador siguen transcribiéndose en el núcleo en las últimas etapas del curso de la infección, pocas secuencias genéticas del hospedador son transportadas al citoplasma. Un complejo que afecta al polipéptido E1B de 55-kDa y al polipéptido E4 de 34-kDa inhibe la acumulación citoplásmica de los mRNA celulares y facilita la acumulación de los mRNA virales, tal vez al reubicar un supuesto factor celular necesario para el transporte de mRNA. Se elaboran cantidades muy grandes de proteínas estructurales virales.

Cabe hacer notar que los estudios con mRNA de hexona de adenovirus llevaron al descubrimiento profundo de que los mRNA eucarióticos por lo general no son colineales con sus genes sino que son productos empalmados de diferentes regiones de codificación en el DNA genómico.

D. Ensamble y maduración viral

La morfogénesis del virión ocurre en el núcleo. Cada capsómero de hexona es un trímero de polipéptidos idénticos. La pentona consta de cinco polipéptidos de base de pentona y tres polipéptidos de fibra. Un “armazón proteínico” codificado por L4 tardío ayuda a la agregación de polipéptidos de hexona pero no es parte de la estructura final.

Los capsómeros se autoensamblan en cápsides de armazón vacía en el núcleo. El DNA desnudo luego entra en la cápside preformada. Un elemento de DNA de acción en cis cercano al extremo izquierdo del cromosoma viral sirve de señal de empaquetamiento, necesaria para el fenómeno de reconocimiento de DNA-cápside. Otro armazón proteínico viral, codificado en el grupo L1, facilita la encapsidación de DNA. Por último, las proteínas centrales precursoras se desdoblan, lo que permite a la partícula ajustar su configuración y se añaden las pentonas. Una cisteína proteinasa codificada por el virus funciona en algunos desdoblamientos de proteínas precursoras. La partícula madura luego es estable, infecciosa y resistente a las nucleasas. El ciclo infeccioso del adenovirus tarda unas 24 horas. El proceso de ensamble es ineficiente; alrededor de 80% de los capsómeros de hexona y 90% del DNA del virus no se utilizan. No obstante, se producen cerca de 100 000 partículas virales por célula. En la figura 32-2B se clasifican las proteínas estructurales relacionadas con partículas virales maduras.

E. Efectos del virus sobre los mecanismos de defensa del hospedador

Los adenovirus codifican varios productos génicos que contrarrestan los mecanismos de defensa antiviral del hospedador. Los abundantes y pequeños RNA de VA confieren protección contra el efecto antiviral del interferón al evitar la activación de una cinasa inducible por interferón que fosforila e inactiva el factor de iniciación eucariótico 2. Las proteínas de la región E3 del adenovirus, que no son esenciales para el desarrollo del virus en el cultivo de tejidos, inhiben la citólisis de las células infectadas por las respuestas del hospedador. La proteína E3 de gp19-kDa bloquea el movimiento del antígeno de MHC clase I hacia la superficie celular protegiendo así a la célula infectada de la lisis mediada por el linfocito T citotóxico (CTL, *cytotoxic T lymphocyte*). Otras proteínas codificadas por E3 bloquean la activación de la citólisis por la citosina TNF-α.

F. Efectos del virus sobre las células

Los adenovirus son citopáticos para los cultivos de células humanas, sobre todo las células del riñón y de epitelios continuos. El efecto citopático suele consistir en redondez notable, crecimiento y acumulación de células afectadas en racimos parecidos a los de uva. Las células infectadas no experimentan lisis aun cuando se redondeen y abandonen la superficie de vidrio sobre la cual se hayan desarrollado.

En las células infectadas con algunos tipos de adenovirus, se observan inclusiones intranucleares redondeadas que contienen DNA (fig. 32-4). Estas inclusiones nucleares pueden confundirse con las del citomegalovirus, pero las infecciones por adenovirus no activan sincicios ni células gigantes multinucleadas. Aunque los cambios citológicos no son patognomónicos de los adenovirus, son útiles con fines diagnósticos en el cultivo de tejidos y en piezas de biopsia.

Las partículas virales en el núcleo a menudo muestran disposiciones lineales en cristal. Las células infectadas con virus del grupo B también contienen cristales que constan de proteína sin ácido nucleico. Las partículas virales permanecen dentro de la célula después de que se completa el ciclo y que la célula muere.

Los adenovirus humanos muestran una reducida gama de hospedadores. Cuando se infectan las células de otras especies distintas al ser humano, los adenovirus humanos por lo general experimentan un ciclo de replicación abortiva y no se produce ninguna progenie infecciosa.

Genoterapia

Se están utilizando los adenovirus como vehículos para administrar genes para el tratamiento del cáncer, genoterapia y estudios de inmunización genética. Los adenovirus son atractivos

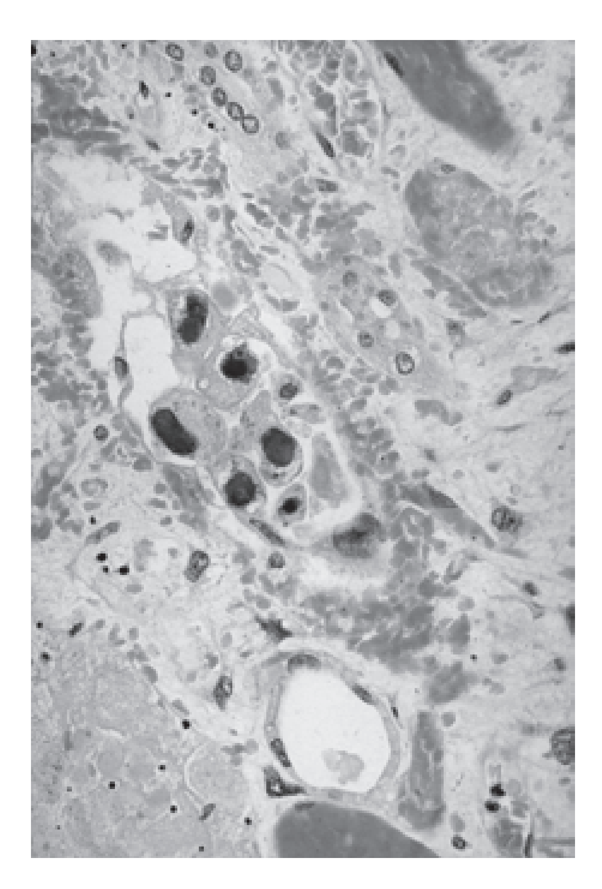


FIGURA 32-4 Citopatología del adenovirus en tejido humano. Células del epitelio tubular con cuerpos de inclusión basofílicos en un paciente con nefritis tubulointersticial necrosante (450×). (Cortesía de M. Ito.)

en virtud de que los virus con replicación defectuosa recombinantes poseen las ventajas de una gran eficiencia en la transducción de muchos tipos de células y altos grados de expresión de genes transducidos a corto plazo; sin embargo, las limitaciones importantes comprenden su gran inmunogenicidad y la gran prevalencia de la inmunidad preexistente en seres humanos a los adenovirus del subgrupo C (los tipos 2 y 5 se utilizan ampliamente como vectores). Otras limitantes son la expresión de receptor variable (CAR) en diferentes células y la imposibilidad para integrarse en el DNA cromosómico y facilitar la expresión transgénica a largo plazo. Se están realizando investigaciones para el diseño de vectores y técnicas de direccionamiento para superar estas limitaciones.

Un tratamiento antineoplásico novedoso utiliza un adenovirus de replicación competente atenuado elaborado para replicarse sólo en células cancerosas específicas. Este "tratamiento oncolítico" tiene como propósito destruir directamente las células tumorales debido a la replicación lítica del virus.

Susceptibilidad animal y transformación de células

La mayoría de los animales de laboratorio no se infecta fácilmente con adenovirus humanos, aunque los hámster recién nacidos sufren una infección mortal con adenovirus tipo 5 y los animales adultos jóvenes permiten la replicación del adenovirus 5 en el pulmón. Varios serotipos, sobre todo tipos 12, 18 y 31, pueden activar tumores cuando se inoculan en hámsters recién nacidos (cuadro 32-2). Todos los adenovirus pueden transformar morfológicamente células en cultivo sea cual sea su potencial oncógeno *in vivo* (cap. 43). Sólo una pequeña parte (<20%) del genoma del adenovirus está presente en la mayoría de las células transformadas.

Los genes transformadores de adenovirus humanos están localizados en la región inicial (E1A y E1B) en el extremo izquierdo del genoma viral. Una excepción es el tipo 9; con el mismo, es necesario el gen E4 para la oncogénesis mamaria en las ratas. Los estudios de genes transformadores de adenovirus han revelado mecanismos de control del crecimiento celular que están alterados en muchos tipos de células cancerosas.

El gran carácter oncógeno del adenovirus tipo 12 puede estar relacionado con la observación de que un efecto de su región inicial es inactivar la síntesis de los antígenos de histocompatibilidad mayor de clase I (H2 o HLA) en algunas células infectadas y transformadas, previniendo así la destrucción por CTL.

No se considera que los adenovirus sean importantes en el cáncer humano.

INFECCIONES POR ADENOVIRUS EN SERES HUMANOS

Patogenia

Los adenovirus infectan y se replican en células epiteliales del sistema respiratorio, ojo, tubo digestivo y vías urinarias. No suelen diseminarse más allá de los ganglios linfáticos regionales. Los virus del grupo C persisten como infecciones latentes durante años en las adenoides y las amígdalas y son eliminados en las heces durante muchos meses después de la infección inicial. De hecho, el nombre "adenovirus" refleja la recuperación de la cepa inicial a partir de explantes de adenoides de seres humanos.

La mayor parte de los adenovirus humanos se replica en el epitelio intestinal tras la ingestión pero suelen producir infecciones leves más que síntomas manifiestos.

Manifestaciones clínicas

Aproximadamente un tercio de los serotipos humanos conocidos suele relacionarse con enfermedades humanas. Cabe hacer notar que un solo serotipo puede causar diferentes enfermedades clínicas y, por lo contrario que más de un tipo puede causar la misma enfermedad clínica. Los adenovirus 1-7 son los tipos más frecuentes en todo el mundo y contribuyen a la mayoría de los casos de enfermedad relacionada con adenovirus.

Los adenovirus intervienen en casi 5% de las enfermedades respiratorias agudas en niños pequeños, pero contribuyen a mucho menos en los adultos. Casi todas las infecciones son leves y ceden espontáneamente. Los virus en ocasiones son causa de enfermedad en otros órganos, sobre todo en los ojos y en el aparato digestivo.

A. Enfermedades respiratorias

Los síntomas característicos consisten en tos, congestión nasal, fiebre y disfagia. Este síndrome suele manifestarse en los lactantes y niños. Por lo general se debe a virus del grupo C. Estos casos son difíciles de distinguir de otras infecciones respiratorias leves por virus que pueden producir síntomas similares.

Se piensa que los adenovirus, sobre todo los tipos 3, 7 y 21, son causa de casi 10 a 20% de las neumonías en la infancia. Se ha comunicado que la neumonía por adenovirus tiene una tasa de mortalidad de 8 a 10% en los niños muy pequeños.

En el año 2007 se presentó un brote de enfermedad respiratoria grave, que algunas veces fue mortal, por una nueva variante del adenovirus 14. Los pacientes afectados eran de todas las edades y comprendían adultos jóvenes sanos.

Los adenovirus son la causa de un síndrome respiratorio agudo entre reclutas militares. Este síndrome se caracteriza por fiebre, faringitis, congestión nasal, tos y malestar, que a veces desencadenan neumonía. Ocurre en forma epidémica en reclutas militares jóvenes en condiciones de fatiga, estrés y hacinamiento poco después del alistamiento. Esta enfermedad es causada por adenovirus tipos 4 y 7 y a veces por el tipo 3. Puesto que no se dispone de vacuna, en la década de 1990 los militares estadounidenses dejaron de vacunar contra los adenovirus (tipos 4 y 7); esto se acompañó de grandes epidemias que afectaron a millares de conscriptos.

B. Infecciones oculares

La afectación ocular leve puede ser parte de los síndromes respiratorios-faríngeos causados por los adenovirus. La fiebre faringoconjuntival tiende a presentarse en brotes epidémicos, como los que ocurren en campos de verano de los niños ("conjuntivitis de la alberca") y están relacionados con los adenovirus tipos 3 y 7. La duración de la conjuntivitis es de una a dos semanas y el resultado frecuente es el restablecimiento completo sin ninguna secuela duradera.

Una epidemia más grave es la queratoconjuntivitis epidémica. Esta enfermedad ocurre principalmente en los adultos y es muy contagiosa. Los adenovirus pueden permanecer viables por varias semanas en lavabos y toallas de mano y éstos pueden ser una fuente de transmisión. La enfermedad se caracteriza por conjuntivitis aguda, seguida de queratitis que puede resolverse en dos semanas pero que puede dejar opacidades subepiteliales en la córnea durante más de dos años. Es causada por los adenovirus de tipos 8, 19 y 37.

Un estudio realizado en Japón (1990 a 2001) donde el adenovirus tipo 37 es la principal causa de queratoconjuntivitis epidémica demostró que las mutaciones en el genoma viral ocurrían cronológicamente y que determinadas mutaciones se correlacionaban con la epidemia de la enfermedad.

C. Infecciones digestivas

Muchos adenovirus se replican en las células intestinales y se identifican en las heces, pero la presencia de casi todos los serotipos no se relaciona con enfermedad digestiva. Sin embargo, dos serotipos (tipos 40 y 41) se han vinculado etiológicamente con la gastroenteritis infantil y pueden ser causa de 5 a 15% de los casos de gastroenteritis viral en niños pequeños. Los adenovirus tipos 40 y 41 están presentes en abundancia en las heces diarreicas. Los adenovirus intestinales son muy difíciles de cultivar.

D. Otras enfermedades

Los pacientes inmunodeprimidos pueden padecer diversas infecciones por adenovirus casuales y graves. El problema más frecuente causado por la infección por adenovirus en pacientes sometidos a trasplante son las enfermedades respiratorias que pueden evolucionar a neumonía grave y pueden ser mortales (por lo general tipos 1 a 7). Los niños que reciben trasplantes hepáticos pueden desarrollar hepatitis por adenovirus en el aloinjerto. Además, los niños con trasplantes cardiacos que presentan infecciones miocárdicas por adenovirus tienen un mayor riesgo de pérdida del injerto. Los receptores infantiles de injertos de hemocitoblastos pueden presentar infecciones por una gran variedad de tipos de adenovirus. Los pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) pueden padecer infecciones por adenovirus, sobre todo en el tubo digestivo.

Es posible que los tipos 11 y 21 provoquen cistitis hemorrágica aguda en los niños, sobre todo en los varones. Los virus suelen detectarse en la orina de estos pacientes.

Inmunidad

En contraste con casi todos los agentes infecciosos respiratorios, los adenovirus desencadenan una inmunidad eficaz y duradera contra la reinfección. Esto puede reflejar el hecho de que los adenovirus también infectan ganglios linfáticos regionales y células linfoides en el tubo digestivo. La resistencia a la afección clínica al parecer tiene una relación directa con la presencia de anticuerpos neutralizantes en la circulación, los cuales quizá persisten de por vida. Aunque los anticuerpos neutralizantes específicos pueden proteger contra los síntomas de la enfermedad, es posible que no siempre eviten la reinfección. (Las infecciones por adenovirus a menudo ocurren sin producir enfermedad manifiesta.)

Los anticuerpos maternos suelen proteger a los lactantes contra las infecciones respiratorias graves por adenovirus. Los anticuerpos neutralizantes contra uno o más tipos se han detectado en más de 50% de los lactantes de 6 a 11 meses de edad. Los adultos sanos normales por lo general tienen anticuerpos contra varios tipos.

Una respuesta de anticuerpo reactivo al grupo, diferente al anticuerpo neutralizante específico, puede cuantificarse mediante pruebas de CF, IF o ELISA. Los anticuerpos específicos de grupo no confieren protección, disminuyen con el tiempo y no revelan los serotipos de infecciones virales previas.

Diagnóstico de laboratorio

A. Detección, aislamiento e identificación del virus

Deben obtenerse muestras de los lugares afectados en las primeras etapas de la enfermedad para optimizar el aislamiento del virus. Dependiendo de la enfermedad clínica, se puede obtener el virus de las heces o de la orina o de un exudado faríngeo, conjuntival, o rectal. La duración de la excreción de los adenovirus varía entre las diferentes enfermedades: uno a tres días, la faringe de adultos con resfriado común; tres a cinco días, faringe, heces y ojos para la fiebre faringoconjuntival; dos semanas, los ojos para la queratoconjuntivitis; tres a seis semanas, faringe y heces de niños con enfermedades respiratorias; 2 a 12 meses, orina, faringe y heces de pacientes inmunodeprimidos.

Para el aislamiento del virus en un cultivo celular se necesitan células humanas. Las células primarias de riñón embrionario humano son muy susceptibles pero por lo general no son fáciles de obtener. Los linajes de células epiteliales humanas establecidas, como HEp-2, HeLa y KB, son sensibles pero difíciles de mantener sin degeneración por el largo tiempo (28 días) necesario para detectar algunas cepas naturales de crecimiento

lento. Se pueden identificar cepas como adenovirus mediante las pruebas inmunofluorescentes en las que se utiliza anticuerpo antihexona en células infectadas. Las pruebas HI y Nt miden antígenos específicos y se pueden utilizar para identificar serotipos específicos.

La detección de adenovirus infecciosos puede realizarse rápidamente utilizando la técnica centrifugación y cultivo. Se centrifugan especímenes virales directamente en células de cultivo de tejido; se incuban durante uno a dos días y luego se realizan pruebas con anticuerpos monoclonales dirigidos contra un epitopo reactivo de grupo en el antígeno de hexona. Además, las células epiteliales nasales de un paciente se pueden teñir directamente para detectar los antígenos virales.

Se pueden utilizar los análisis de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) para el diagnóstico de infecciones por adenovirus en muestras de tejido o líquidos corporales, por lo general utilizando cebadores de una secuencia viral conservada (p. ej., hexona, VA I) que pueden detectar todos los serotipos. Se han descrito análisis de PCR que utilizan pares de cebadores individuales que están dirigidos a segmentos conservados que envuelven una región hipervariable en el gen de la hexona. El análisis permite detectar todos los serotipos conocidos de adenovirus humanos y determinar la secuencia del amplicón permite la identificación del serotipo. Este método es rápido en comparación con las semanas necesarias para el aislamiento del virus seguido de los análisis de neutralización. Sin embargo, la sensibilidad del análisis de PCR puede dar por resultado la detección de adenovirus latente en algunos pacientes.

La detección del DNA viral mediante hibridación o mediante patrones de restricción de la digestión de la endonucleasa identifica una cepa como un adenovirus y la clasifica. Estos métodos son muy útiles para los tipos que son difíciles de cultivar.

Los adenovirus intestinales de cultivo difícil pueden detectarse mediante el examen directo de extractos de heces en el microscopio electrónico, mediante ELISA o con las pruebas de aglutinación en látex. Se pueden aislar, con dificultad, en una línea de células renales embrionarias humanas transformadas con un fragmento de DNA de adenovirus 5 (293 células).

Puesto que los adenovirus pueden persistir en el intestino y en el tejido linfoide por periodos prolongados y dado que la exacerbación de la eliminación viral puede desencadenarse por otras infecciones, se debe interpretar con precaución la importancia de una cepa viral. El obtener virus del ojo, el pulmón o el aparato genital es diagnóstico de una infección activa. El aislamiento del virus de secreciones de la faringe de un paciente con enfermedad respiratoria puede considerarse relevante para la enfermedad clínica. El aislamiento del virus de muestras de heces no es concluyente a menos que se obtenga uno de los tipos de cultivo difícil en un paciente con gastroenteritis.

B. Estudio serológico

La infección de seres humanos con cualquier tipo de adenovirus estimula una elevación de los anticuerpos fijadores del complemento contra los antígenos del grupo de adenovirus que comparten todos los tipos. La prueba CF es un método fácilmente aplicado para detectar la infección por cualquier miembro del grupo de los adenovirus, aunque la prueba tiene una baja sensibilidad. Una elevación de cuatro veces o más en el título de anticuerpos fijadores de complemento entre los sueros de fase aguda y de fase convaleciente indican una infección reciente por un adenovirus, pero no brinda ningún indicio sobre el tipo específico que la causa.

Si es necesaria la identificación específica de la respuesta serológica de un paciente se pueden utilizar las pruebas Nt o HI. La prueba Nt es la más sensible. En la mayoría de los casos, el título de anticuerpo neutralizante de las personas afectadas muestra un incremento de cuatro veces o más contra el tipo de adenovirus que se obtiene en el paciente.

Epidemiología

Existen adenovirus en todas las partes del mundo. Están presentes durante todo el año y por lo general no producen brotes epidémicos de la enfermedad en la población, los serotipos más frecuentes en las muestras clínicas son los tipos respiratorios de números bajos (1, 2, 3, 5 y 7) y los de tipo de gastroenteritis (40, 41). Los adenovirus se diseminan por el contacto directo, por la vía fecal-oral, por las gotículas respiratorias o por los fómites contaminados. La mayor parte de las enfermedades relacionadas con los adenovirus no es clínicamente patognomónica y muchas infecciones son leves.

Las infecciones por los tipos 1, 2, 5 y 6 ocurren principalmente durante los primeros años de vida; los tipos 3 y 7 se contraen durante los años escolares; y los demás tipos (como 4, 8 y 19) no se presentan hasta la edad adulta.

Si bien los adenovirus causan sólo 2 a 5% de todas las enfermedades respiratorias en la población general, las enfermedades respiratorias originadas por los tipos 3, 4 y 7 son frecuentes entre los reclutas. La infección por adenovirus puede causar una gran morbilidad en los reclutas. Sin embargo, no constituyen un problema en las tropas de veteranos.

En 1997 ocurrió un brote epidémico de infección respiratoria aguda causada por adenovirus tipo 11 en adultos jóvenes que vivían en una instalación de capacitación laboral, el primero de estos brotes epidémicos reconocido en civiles.

Las infecciones oculares pueden transmitirse de diversas maneras, pero es muy importante la transmisión de mano a ojo. Los brotes epidémicos de la conjuntivitis de la alberca supuestamente son transmitidos en el agua, por lo general ocurren en el verano y suelen deberse a los tipos 3 y 7. La queratoconjuntivitis epidémica es una enfermedad muy contagiosa y grave. La enfermedad, causada por el adenovirus tipo 8, se diseminó en 1941 desde Australia a través de las islas hawaianas hacia la costa del Pacífico. Se disemina con rapidez por los astilleros (de ahí el nombre de "ojo de astillero") y a todo Estados Unidos, en donde la frecuencia de anticuerpo neutralizante al adenovirus tipo 8 en la población general es muy baja (alrededor de 1%), en tanto que en Japón es superior a 30%. En tiempos más recientes, los adenovirus tipos 19 y 37 han causado epidemias de queratoconjuntivitis epidémica característica. Los brotes epidémicos de conjuntivitis originados en consultorios de oftalmólogos supuestamente fueron causados por soluciones oftálmicas o equipo de diagnóstico contaminados.

La incidencia de la infección por adenovirus en los pacientes que se someten a trasplante de médula ósea se ha estimado de 5 hasta 30%. La frecuencia notificada es más elevada en los pacientes pediátricos que en los adultos. Puede presentarse una infección diseminada mortal. Los adenovirus tipos 34 y 35 se identifican muy a menudo en receptores de trasplante de

médula ósea y riñón. La fuente más probable de infección en pacientes con trasplante es la reactivación viral endógena, aunque las infecciones primarias pueden representar un factor en la población pediátrica.

Tratamiento

No se dispone de ningún tratamiento específico para las infecciones por adenovirus.

Prevención y control

El lavado cuidadoso de las manos es la forma más fácil de evitar las infecciones. Las superficies ambientales pueden desinfectarse con hipoclorito de sodio. En ámbitos grupales, son recomendables las toallas de papel pues las toallas sucias pueden ser una fuente de infección de los brotes epidémicos. El riesgo de brotes epidémicos de conjuntivitis transmitida por el agua se puede minimizar mediante la cloración de las piscinas y del agua residual. La asepsia estricta durante la exploración ocular, aunada a la esterilización adecuada del equipo, es esencial para el control de la queratoconjuntivitis epidémica.

Los intentos por controlar las infecciones por adenovirus en los militares se han enfocado en las vacunas. La vacuna de adenovirus vivos contiene los tipos 4 y 7, contenidos en cápsulas de gelatina recubierta y que se administran por vía oral, se introdujo en 1971. De esta manera, el virus se desviaba del sistema respiratorio, donde podía causar enfermedad, y se liberaba en el intestino, donde se replica y activa la formación de anticuerpo neutralizante. No se disemina de una persona vacunada a los contactos. La vacuna resultó muy eficaz, pero después de 1999 ya no estuvo disponible pues se había suspendido su elaboración.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

En las preguntas siguientes lo singular puede cambiarse a plural (o viceversa) según lo dicta su sentido.

1. ¿Qué proteína de adenovirus regula la transcripción inicial del gen viral y modula el ciclo celular?
   (A) Fibra
   (B) Hexona
   (C) Pentona
   (D) Proteína terminal
   (E) Proteína de la región E1
   (F) Cisteína proteinasa
   (G) Proteína de la región E3
2. ¿Qué proteína de adenovirus sirve de cebador para iniciar la síntesis de DNA viral?
   (A) Fibra
   (B) Hexona
   (C) Pentona
   (D) Proteína terminal
   (E) Proteína de la región E1
   (F) Cisteína proteinasa
   (G) Proteína de la región E3
3. ¿Qué proteína de adenovirus comprende la mayor parte de los capsómeros que constituyen la cápside del virus?
   (A) Fibra
   (B) Hexona
   (C) Pentona
   (D) Proteína terminal
   (E) Proteína de la región E1
   (F) Cisteína proteinasa
   (G) Proteína de la región E3
4. Un lactante de tres meses tenía diarrea líquida y fiebre de 10 días de duración. El rotavirus o los adenovirus tipos 40 y 41 son los agentes etiológicos sospechados. ¿Qué tipo de muestra sería más apropiada para detectar la infección por adenovirus tipos 40 y 41 en este paciente?
   (A) Sangre
   (B) Orina
   (C) Frotis de conjuntiva
   (D) Heces
   (E) Exudado faríngeo
   (F) Líquido cefalorraquídeo
5. ¿Cuál de las siguientes enfermedades humanas no se ha relacionado con los adenovirus?
   (A) Cáncer
   (B) Resfriados comunes
   (C) Enfermedades respiratorias agudas
   (D) Queratoconjuntivitis
   (E) Gastroenteritis
   (F) Cistitis hemorrágica
6. Un niño de dos años y medio de edad que acudía a la guardería contrajo una infección respiratoria leve. Otros niños de la escuela tienen enfermedades similares. ¿Cuáles tipos de adenovirus son los que producen con más frecuencia las enfermedades?
   (A) Tipos 40, 41
   (B) Tipos 8, 19, 37
   (C) Tipos 1, 2, 5, 6
   (D) Tipos 3, 4, 7
   (E) Tipos 21, 22, 34, 35
7. ¿Qué tipos de adenovirus son causas frecuentes de infección respiratoria aguda en reclutas?
   (A) Tipos 40, 41
   (B) Tipos 8, 19, 37
   (C) Tipos 1, 2, 5, 6
   (D) Tipos 3, 4, 7
   (E) Tipos 21, 22, 34, 35
8. ¿Cuál de los siguientes sucesos llevó a la reaparición de los brotes epidémicos de infecciones respiratorias agudas en reclutas estadounidenses a finales de la década de 1990?
   (A) Surgimiento de una nueva cepa virulenta de adenovirus
   (B) Cese del programa de vacunación de adenovirus para reclutas
   (C) Cambio en las condiciones de albergue y capacitación militar de los reclutas
   (D) Cese del programa de farmacoterapia antiviral contra el adenovirus para los reclutas
9. Su proyecto de investigación para el verano es estudiar los virus que causan gastroenteritis. Obtiene un virus de una muestra de heces y observa que el medio de los cultivos infectados es muy ácido. Detecta que el genoma del virus es DNA bicatenario. ¿Cuál de las siguientes es la conclusión más apropiada?
   (A) Hay una gran posibilidad de que el agente sea un rotavirus
   (B) Necesita determinar el serotipo viral para establecer si el virus fue importante como causa de la enfermedad
   (C) El paciente debió haberse tratado con el antiviral amantadina para acortar la duración de los síntomas
   (D) La partícula de virus contendría una enzima transcriptasa inversa

10. ¿Cuál de los siguientes grupos de individuos tiene el menor riesgo de infección por adenovirus?
    (A) Adultos sanos
    (B) Niños pequeños
    (C) Receptores de trasplante de médula ósea
    (D) Reclutas
    (E) Pacientes con sida
11. Los adenovirus pueden causar infecciones oculares que son muy contagiosas. ¿Cuál de los siguientes es el medio menos factible de transmisión durante un brote de queratoconjuntivitis epidémica?
    (A) Albercas
    (B) Toallas de mano
    (C) Picaduras de mosquitos
    (D) Mano a ojo
    (E) Equipo oftálmico contaminado

Respuestas

1. E	4. D	7. D	10. A
2. D	5. A	8. B	11. C
3. B	6. C	9. B	

BIBLIOGRAFÍA

Berk AJ: *Adenoviridae*: The viruses and their replication. In: *Fields Virology*, 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Berk AJ: Recent lessons in gene expression, cell cycle control, and cell biology from adenovirus. Oncogene 2005;24:7673. [PMID: 16299528]

Kolavic-Gray SA et al: Large epidemic of adenovirus type 4 infection among military trainees: Epidemiological, clinical, and laboratory studies. Clin Infect Dis 2002;35:808. [PMID: 12228817]

Mahony JB: Detection of respiratory viruses by molecular methods. Clin Microbiol Rev 2008;21:716. [PMID: 18854489]

Russell WC: Adenoviruses: Update on structure and function. J Gen Virol 2009;90:1. [PMID: 19088268]

Sarantis H, Johnson G, Brown M, Petric M, Tellier R: Comprehensive detection and serotyping of human adenoviruses by PCR and sequencing. J Clin Microbiol 2004;42:3963. [PMID: 15364976]



CAPÍTULO

33

Herpesvirus

La familia de los herpesvirus contiene varios de los virus patógenos humanos más importantes. Los herpesvirus producen una amplia gama de enfermedades clínicas. Algunos afectan a una amplia variedad de células hospedadoras, en tanto que otros afectan a unas cuantas. La propiedad destacada de los herpesvirus es su capacidad para establecer infecciones persistentes de por vida en sus hospedadores y experimentar reactivación periódica. Su activación frecuente en los pacientes inmunodeprimidos produce complicaciones graves. Es curioso que desde el punto de vista clínico, la infección reactivada pueda ser muy diferente a la enfermedad causada por la infección primaria. Los herpesvirus poseen un gran número de genes, algunos de los cuales han resultado ser susceptibles a la quimioterapia antiviral.

Los herpesvirus que suelen infectar al ser humano son el virus del herpes simple tipos 1 y 2 (HSV-1, HSV-2), el virus de la varicela-zoster, el citomegalovirus, el virus de Epstein-Barr (EBV), los herpesvirus 6 y 7, el herpesvirus 8 (herpesvirus relacionado con el sarcoma de Kaposi [KSHV, *Kaposi sarcoma-associated herpesvirus*]. El virus del herpes B de los monos también puede infectar al ser humano. Existen casi 100 virus del grupo del herpes que infectan a muchas especies de animales diferentes.

PROPIEDADES DE LOS HERPESVIRUS

En el cuadro 33-1 se resumen propiedades importantes de los herpesvirus.

Estructura y composición

Los herpesvirus son virus de gran tamaño. Diferentes miembros del grupo comparten detalles estructurales y son distinguibles mediante microscopia electrónica. Todos los herpesvirus tienen un centro de DNA bicatenario, en forma de un toroide, rodeado por una cubierta de proteína que muestra una simetría icosaédrica y que tiene 162 capsómeros. La nucleocápside está rodeada por una envoltura que se deriva de la membrana nuclear de la célula infectada y contiene espigas de nucleoproteína viral de unos 8 nm de longitud. La estructura amorfa, a veces asimétrica, que se encuentra entre la cápside y la cubierta, se designa tegumento. La forma con envoltura mide 150 a 200 nm; el virión "desnudo", 125 nm.

El genoma de DNA bicatenario (125 a 240 kbp) es lineal. Una característica notable del DNA de los herpesvirus es la disposición de su secuencia (fig. 33-1). Los genomas del herpesvirus poseen secuencias terminales e internas repetidas. Algunos miembros, como los HSV, experimentan reordenamientos del genoma y originan diferentes "isómeros" genómicos. La composición fundamental de los DNA del herpesvirus varía desde 31 a 75% (G + C). Hay una escasa homología de DNA entre los diferentes herpesvirus, excepto para HSV-1 y HSV-2, que muestran una homología secuencial de 50%, y los herpesvirus humanos 6 y 7, que muestran una homología de secuencia limitada (30 a 50%). El tratamiento con endonucleasas restrictivas genera patrones de desdoblamiento característicamente diferentes para los herpesvirus e incluso para las diferentes cepas de cada tipo. Esta "huella molecular" de las cepas permite el rastreo epidemiológico de una determinada cepa.

El genoma del herpesvirus es grande y codifica por lo menos 100 proteínas diferentes. De éstas, más de 35 polipéptidos intervienen en la estructura de la partícula viral; por lo menos 10 son parte de la envoltura viral. Los herpesvirus codifican un ordenamiento de enzimas específicas del virus que intervienen en el metabolismo del ácido nucleico, la síntesis de DNA, la expresión génica y la regulación de proteínas (DNA polimerasa, helicasa-primasa, timidina-cinasa, factores de transcripción, proteína cinasas). Muchos genes de los herpesvirus al parecer son homólogos virales de los genes celulares.

CUADRO 33-1 Propiedades importantes de los herpesvirus

Virión: esférico, 150 a 200 nm de diámetro (icosaédrico)
Genoma: DNA bicatenario, lineal, 125 a 240 kbp, secuencias repetidas
Proteínas: más de 35 proteínas en el virión
Envoltura: contiene glucoproteínas virales, receptores de Fc
Replicación: núcleo, gemación a partir de la membrana nuclear
Características sobresalientes: Codifica muchas enzimas Establece infecciones latentes Persiste en forma indefinida en hospedadores infectados Se reactiva con frecuencia en hospedadores inmunodeprimidos Algunos provocan cáncer

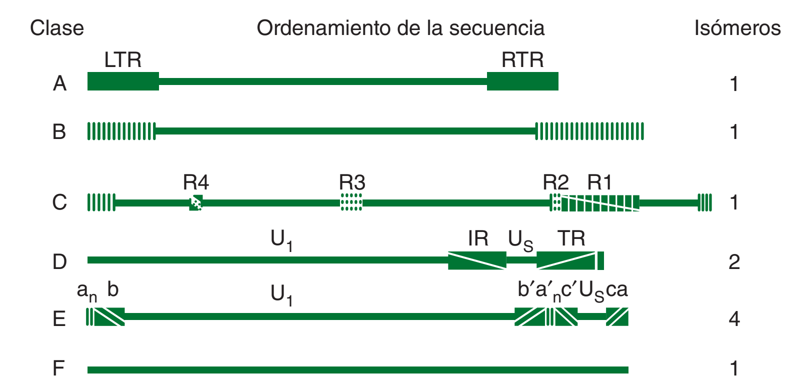


FIGURA 33-1 Diagrama esquemático de los ordenamientos sucesivos del DNA de los herpesvirus. Las clases de genoma A, B, C, D, E y F están ejemplificadas por el virus del bagre de río, del herpesvirus saimiri, EBV, virus varicela-zoster, HSV y herpesvirus tupaia, respectivamente. Las líneas horizontales representan regiones únicas. Los dominios reiterados se muestran como rectángulos: repeticiones terminales izquierda y derecha (LTR y RTR) para la clase A; repeticiones R1 a R4 para las repeticiones internas clase C; y las repeticiones internas y terminales (IR y TR) clase D. En la clase B, las secuencias terminales se reiteran varias veces en los dos términos. Los términos clase E constan de dos elementos: las secuencias terminales (ab y ca) se insertan en una orientación invertida separando las secuencias únicas en dominios largos (U_l) y cortos (U_s). Los genomas clase F no tienen repeticiones terminales. Los componentes de los genomas en las clases B y E se invierten. En la clase D (virus varicela-zoster, el componente corto se invierte en relación con el largo y el DNA forma dos poblaciones (isómeros) con orientación diferente del componente corto. En la clase E (HSV), tanto el componente corto como el largo pueden invertirse y el DNA viral consta de cuatro isómeros. (Reproducida con autorización de Roizman B: Herpesviridae: A brief introduction. Pages 1787-1793. En *Virology*; 2nd. ed. Fields BN et al [editors]. Raven Press, 1990.)

CUADRO 33-2 Clasificación de los herpesvirus humanos

	Propiedades biológicas			Ejemplos	
Subfamilia (“*-herpesvirinae*”)	**Ciclo de crecimiento y citopatología**	**Infecciones latentes**	**Género (“*-virus*”)**	**Nombre original (“herpesvirus humano”)**	**Nombre común**
Alfa	Corto, citolítico	Neuronas	*Simple*	1	Virus del herpes simple tipo 1
				2	Virus del herpes simple tipo 2
			Varicela	3	Virus de varicela-zoster
Beta	Largo, citomegálico	Glándulas, riñones	*Citomegalo*	5	Citomegalovirus
	Largo, linfoproliferativo	Tejido linfoide	*Roseolo*	6	Herpesvirus humano 6
				7	Herpesvirus humano 7
Gamma	Variable, linfoproliferativo	Tejido linfoide	*Lymphocrypto*	4	Virus de Epstein-Barr
			Rhadino	8	Herpesvirus relacionado con el sarcoma de Kaposi

Clasificación

La clasificación de múltiples miembros de la familia del herpesvirus es compleja. Una división útil en subfamilias se basa en las propiedades biológicas de los compuestos (cuadro 33-2). Los herpesvirus alfa son virus citolíticos de crecimiento rápido que tienden a establecer infecciones latentes en las neuronas; son miembros HSV (género, *Simplexvirus*) y el virus de varicela-zoster (género *Varicellovirus*). Los herpesvirus β son de crecimiento lento y pueden ser citomegálicos (crecimientos masivos de las células infectadas) y se vuelven latentes en las glándulas secretoras en los riñones; citomegalovirus se clasifica bajo el género *Citomegalovirus.* También se incluyen aquí, en el género *Roseolovirus,* los herpesvirus humanos tipos 6 y 7; según criterios biológicos, se parecen más a los herpesvirus gamma porque infectan a los linfocitos (linfotrópicos T), pero los análisis moleculares de sus genomas revelan que se relacionan más íntimamente con los herpesvirus β. Los herpesvirus gamma, ejemplificados por EBV (género *Linfocriptovirus*) infectan y se vuelven latentes en las células linfoides. KSHV, designado como herpesvirus humano 8, se clasifica bajo el género *Rhadinovirus*.

Muchos herpesvirus infectan a los animales y de ellos el más notable es el virus B (herpesvirus simiae o herpesvirus cercopithecine 1) del género *Simplexvirus;* los herpesvirus saimiri y ateles de los monos, los dos del género *Rhadinovirus;* los herpesvirus de la marmota (género *Simplexvirus*); y el virus seudorrábico de los cerdos y el virus de la rinotraqueítis bovina infecciosa del ganado, los dos del género *Varicellovirus.*

Existe una escasa correlación antigénica de los miembros del grupo del herpesvirus. Sólo HSV-1 y HSV-2 comparten un número importante de antígenos comunes. Los herpesvirus humanos de tipos 6 y 7 muestran pocos epitopos de reacción cruzada.

Replicación del herpesvirus

En la figura 33-2 se resume el ciclo de replicación de HSV. El virus entra en la célula por fusión con la membrana celular

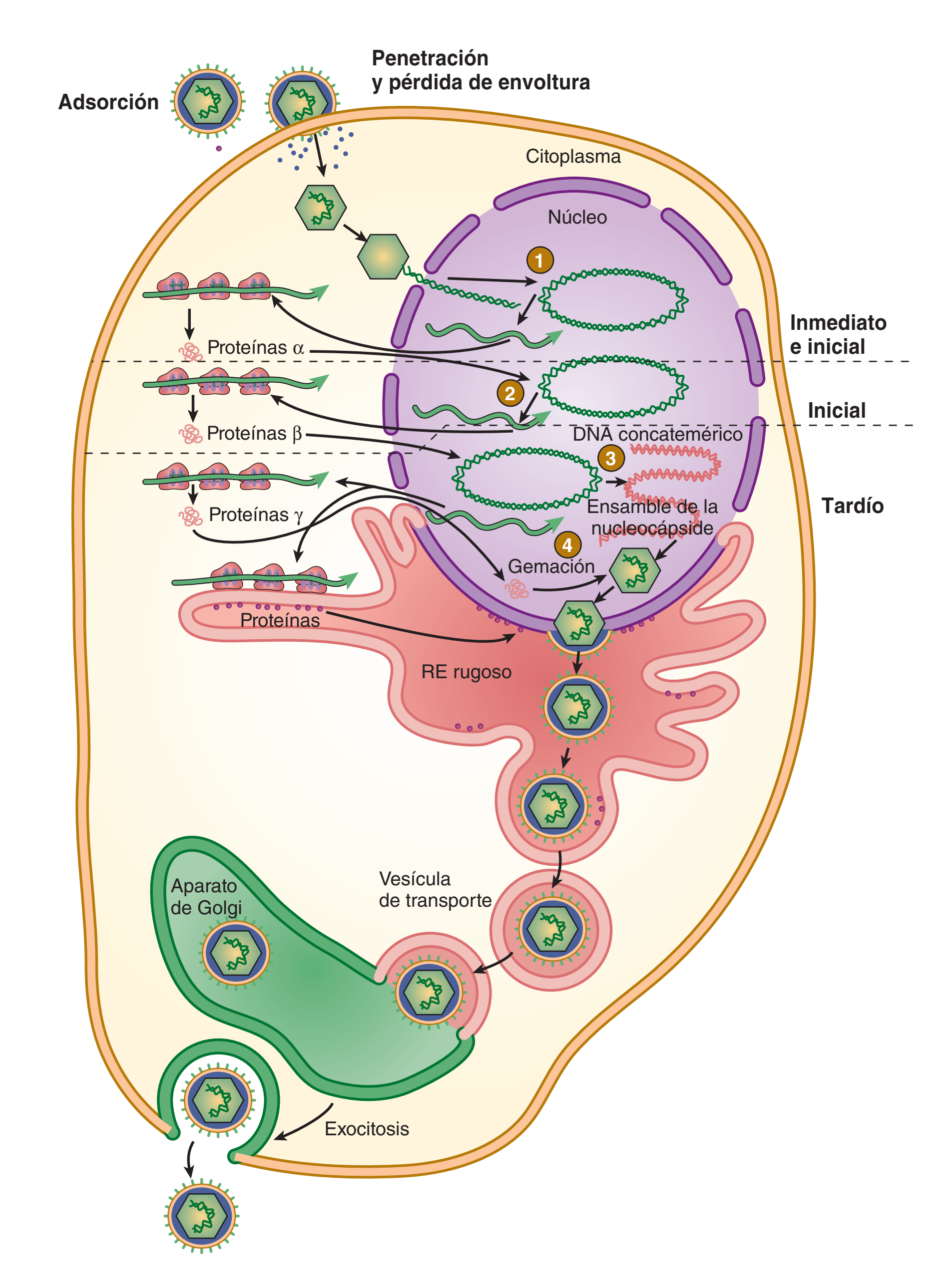


FIGURA 33-2 Ciclo de replicación del virus del herpes simple. **1:** El virus se fusiona con la membrana plasmática y el DNA viral es liberado de la cápside en el poro nuclear, seguido por la circulación de genoma y la transcripción de los genes inmediatos e iniciales. **2:** Las proteínas α, productos de los genes inmediatos e iniciales, estimulan la transcripción de genes iniciales. **3:** Las proteínas β, productos de los genes iniciales, funcionan en la replicación de DNA, generando DNA concatemérico. Los genes tardíos son transcritos. **4:** Las proteínas γ, productos de los genes tardíos y que constan principalmente de proteínas estructurales virales, participan en el ensamble del virión. El DNA viral de longitud de unidad se desdobla en los concatémeros y se guarda en las cápsides. Las partículas virales envueltas se acumulan en el retículo endoplásmico y son transportadas desde las células. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: *Prescott, Harley* y *Klein's Microbiology*, 7th ed. McGraw-Hill, 2008.)

después de unirse a los receptores celulares específicos a través de la glucoproteína de la envoltura. Varios herpesvirus se unen a los glucosaminoglucanos de la superficie celular, principalmente sulfato de heparán. La adherencia del virus también implica la unión a uno de varios correceptores (p. ej., miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas). Después de la fusión, la cápside es transportada a través del citoplasma hasta el poro nuclear; ocurre la pérdida de envoltura y el DNA se asocia al núcleo. El DNA viral forma un círculo inmediatamente después de la liberación desde la cápside. La expresión del genoma viral está estrechamente regulada y sucesivamente ordenada en forma de cascada. VP16, una proteína de tegumento, forma complejos con varias proteínas celulares y activa la expresión inicial del gen viral. Se expresan genes inmediatos-iniciales, que producen proteínas "α". Estas proteínas permiten la expresión de la serie inicial de genes, que se traducen en proteínas "β". Comienza la replicación del DNA viral y se producen transcritos tardíos que dan origen a las proteínas "γ". Se sintetizan más de 50 proteínas diferentes en las células infectadas por herpesvirus. Muchas proteínas α y β son enzimas o proteínas fijadoras de DNA; la mayor parte de las proteínas γ son componentes estructurales.

El DNA viral es transcrito durante todo el ciclo de replicación por la RNA polimerasa celular II pero con la participación de factores virales. El DNA viral se sintetiza mediante un mecanismo

de círculo rodante. Los herpesvirus difieren de otros virus de DNA nuclear en que codifican un gran número de enzimas que intervienen en la síntesis de DNA. (Estas enzimas son puntos sensibles para la acción de antivirales.) El DNA viral recién sintetizado es empacado en nucleocápsides vacías preformadas en el núcleo celular.

La mutación ocurre por la gemación de las nucleocápsides a través de la membrana nuclear interna alterada. Las partículas de virus envueltas son transportadas luego por el movimiento vesicular hacia la superficie de la célula.

La duración del ciclo de replicación varía desde unas 18 h para el HSV hasta más de 70 h para el citomegalovirus. Las células productivamente infectadas con los herpesvirus siempre son destruidas. La síntesis macromolecular del hospedador es inactivada en las primeras etapas de la infección; la síntesis de DNA celular normal y de proteína prácticamente se detiene al comenzar la replicación viral. Los efectos citopáticos provocados por los herpesvirus humanos son muy diferentes (fig. 33-3).

El número de marcos potenciales de codificación de proteínas de lectura abierta en los genomas de herpesvirus fluctúa de casi 70 hasta más de 200. En el caso de HSV, casi la mitad de los genes no son necesarios para el crecimiento en las células cultivadas. Los demás genes probablemente son necesarios para la supervivencia del virus *in vivo* en hospedadores naturales.

En tiempos recientes se ha observado que los herpesvirus expresan múltiples microRNA, pequeños RNA monocatenarios (aproximadamente 22 nucleótidos) que funcionan después de la transcripción para regular la expresión génica. Se prevé que estos microRNA virales son importantes para regular la entrada o la salida de la fase latente del ciclo vital del virus y pueden ser objetivos interesantes para el tratamiento antiviral.

Generalidades de las enfermedades por herpesvirus

Diversas enfermedades se relacionan con la infección por los herpesvirus. La infección primaria y la enfermedad reactivada por un determinado virus pueden implicar diferentes tipos de células y presentar diferentes cuadros clínicos.

HSV-1 y HSV-2 infectan a las células epiteliales y establecen infecciones latentes en las neuronas. El tipo 1 por lo general se relaciona con lesiones bucofaríngeas y produce ataques recidivantes de "herpes febril". El herpesvirus tipo 2 infecta principalmente la mucosa genital y es la causa principal del herpes genital. Los dos virus también producen enfermedad neurológica. HSV-1 es la principal causa de encefalitis esporádica en Estados Unidos. Tanto el tipo 1 como el tipo 2 pueden causar infecciones neonatales que a menudo son graves.

El virus de varicela-zoster produce varicela en la infección primaria y establece una infección latente en las neuronas. Tras la reactivación, el virus produce herpes zoster. Los adultos que

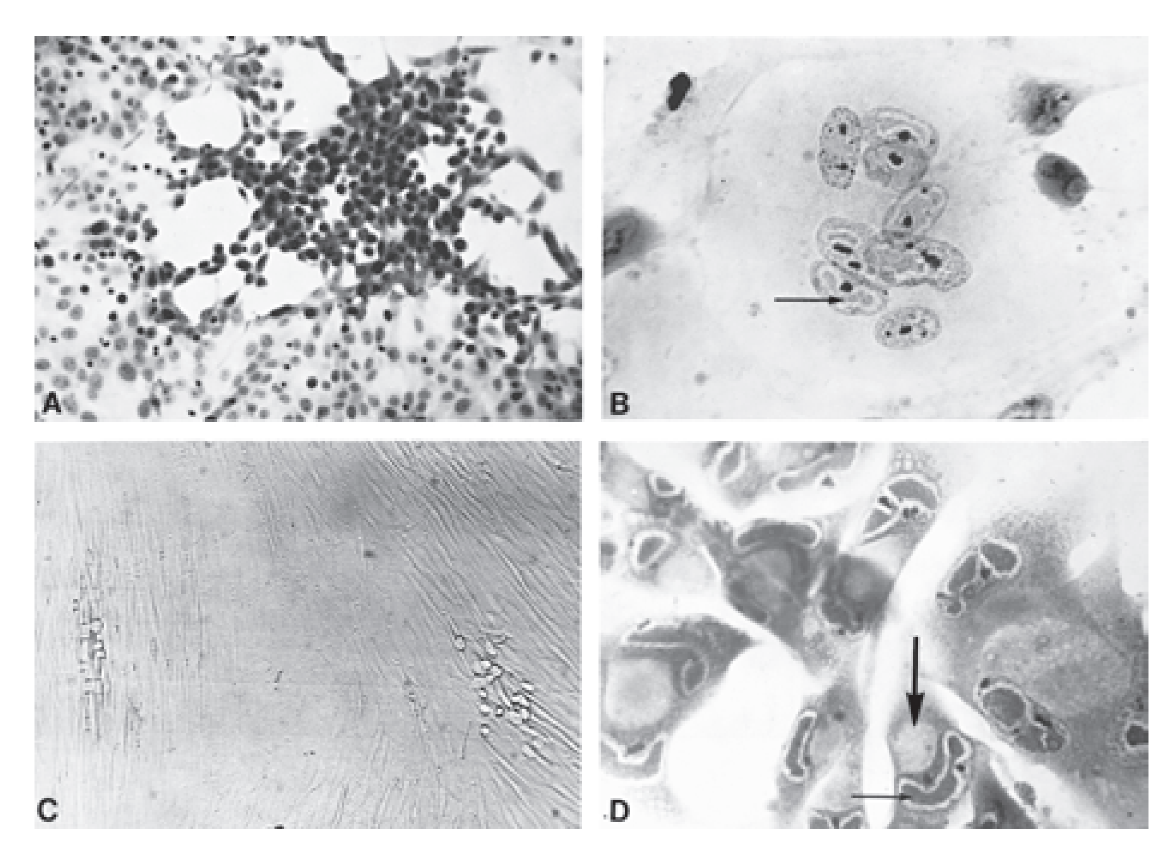


FIGURA 33-3 Efectos citopáticos provocados por los herpesvirus. **A:** HSV en las células HEp-2 (tinción de H y E, 57×), con un foco inicial de células hinchadas, redondas. **B:** Virus varicela-zoster en células de riñón humano (tinción de H y E, 228×), con una célula gigante multinucleada que contiene inclusiones intranucleares acidófilas (*flecha*). **C:** Citomegalovirus en fibroblastos humanos (no teñido, 35×) con dos focos de efectos citopáticos de desarrollo lento. **D:** Citomegalovirus en fibroblastos humanos (tinción de H y E, 228×), que muestra células gigantes con inclusiones acidófilas en los núcleos (*flecha pequeña*) y citoplasma (*flecha grande*); la última es característicamente grande y redonda. (Cortesía de I. Jack; reproducida con autorización de White DO, Fenner FJ: *Medical Virology*, 3rd ed. Academic Press, 1986.)

se han infectado por primera vez con el virus de varicela-zoster pueden presentar una neumonía viral grave.

El citomegalovirus se replica en las células epiteliales del aparato respiratorio, las glándulas salivales y los riñones y persiste en los linfocitos. Produce mononucleosis infecciosa (heterófilo negativa). En los recién nacidos, es posible que se presente citomegalovirosis (citomegalia). Citomegalovirus es una causa importante de defectos congénitos y retraso mental.

Los herpesvirus humanos tipo 6 infectan a los linfocitos T. Suelen adquirirse en las primeras etapas de la lactancia y producen exantema súbito (roséola infantil). El herpesvirus humano 7, también un virus T linfotrópico, no se ha vinculado aún a ninguna enfermedad específica.

El virus EBV se replica en células epiteliales de la bucofaringe y la glándula parótida y establece infecciones latentes en los linfocitos. Es causa de mononucleosis infecciosa y de trastornos linfoproliferativos humanos, sobre todo en pacientes inmunodeprimidos. El herpesvirus humano tipo 8 al parecer se relaciona con la aparición del sarcoma de Kaposi, un tumor vascular que es frecuente en los pacientes con sida.

El herpesvirus B de los monos macacos puede infectar al ser humano. Tales infecciones son infrecuentes pero las que se presentan por lo general dan por resultado enfermedad neurológica grave y a menudo son mortales.

Los herpesvirus humanos a menudo se reactivan en los pacientes inmunodeprimidos (p. ej., receptores de trasplante, pacientes con cáncer) y pueden causar enfermedad grave, como neumonía o linfomas.

Los herpesvirus se han relacionado con enfermedades malignas en seres humanos y en animales inferiores: EBV con linfoma de Burkitt en niños africanos, con carcinoma nasofaríngeo, y con otros linfomas; KSHV con el sarcoma de Kaposi; virus de la enfermedad de Marek con un linfoma de los pollos; y diversos herpesvirus de los primates con los reticulosarcomas y con linfomas en los simios.

INFECCIONES POR HERPESVIRUS EN SERES HUMANOS

VIRUS DEL HERPES SIMPLE

Los HSV están muy diseminados en la población humana. Muestran una amplia gama de hospedadores y pueden replicarse en muchos tipos de células e infectar a muchos animales diferentes. Crecen con rapidez y son muy citolíticos. Los HSV intervienen en una amplia gama de enfermedades, que van desde la gingivoestomatitis hasta la queratoconjuntivitis, la encefalitis, la enfermedad genital y las infecciones de recién nacidos. Los HSV establecen infecciones latentes en células nerviosas; son frecuentes las recidivas.

Propiedades de los virus

Existen dos HSV distintos: el tipo 1 y el tipo 2 (HSV-1 y HSV-2) (cuadro 33-3). Sus genomas son similares en organización y muestran una homología de secuencia sustancial. Sin embargo, se pueden distinguir mediante el análisis de secuencia o por el análisis de enzima de restricción del DNA viral. Los dos virus presentan reacciones cruzadas serológicas, pero hay algunas proteínas singulares para cada tipo. Su mecanismo de transmisión es diferente; HSV-1 se disemina por contacto, por lo general incluye saliva infectada, en tanto que HSV-2 se transmite por vía sexual o de una infección genital materna al recién nacido. Esto da por resultado diferentes manifestaciones clínicas de las infecciones humanas.

El ciclo de crecimiento del HSV procede con rapidez y se necesitan 8 a 16 h para que concluya. El genoma del HSV es grande (aproximadamente 150 kbp) y puede codificar un mínimo de 70 polipéptidos; se desconocen las funciones de muchas de estas proteínas en la replicación o en la latencia. Por lo menos 8 glucoproteínas virales figuran entre los productos de genes tardíos virales. Una (gD) es el activador más potente de los anticuerpos neutralizantes. La glucoproteína C es una proteína de complemento de unión a (C3b), en tanto que gE es un receptor de Fc, que se une a la porción Fc de la IgG. La glucoproteína G es específica y permite la distinción antigénica entre HSV-1 (gG-1) y HSV-2 (gG-2).

Patogenia y anatomía patológica

A. Anatomía patológica

Puesto que HSV produce infecciones citolíticas, los cambios anatomopatológicos se deben a la necrosis de las células infectadas junto con la respuesta inflamatoria. Las lesiones provocadas en la piel y las mucosas por HSV-1 y HSV-2 son las mismas y se parecen a las del virus de varicela-zoster. Los cambios provocados por el HSV son similares en las infecciones primarias y en las recidivantes pero varían en el grado, lo que refleja la magnitud de la citopatología viral.

Los cambios histopatológicos característicos consisten en abombamiento de las células infectadas, producción de cuerpos de inclusión intranuclear de Cowdry tipo A, marginación de la cromatina y formación de células gigantes multinucleadas. La fusión celular proporciona un método eficiente para la diseminación intercelular del HSV, aun cuando haya anticuerpos neutralizantes.

B. Infección primaria

El HSV se transmite por el contacto de una persona susceptible con un virus excretado individual. El virus debe encontrar las superficies de la mucosa o la piel lesionada para poder iniciar una infección (la piel intacta es resistente). Las infecciones por HSV-1 suelen limitarse a la bucofaringe y el virus se disemina por gotículas respiratorias o por el contacto directo con saliva infectada. HSV-2 suele transmitirse por las vías genitales. La replicación viral ocurre primero en el lugar de la infección. El virus invade luego las terminaciones nerviosas locales y es transportado por el flujo axonal retrógrado hacia los ganglios de la raíz dorsal donde, después de la replicación adicional, se establece la latencia. Las infecciones bucofaríngeas por HSV-1 producen infecciones latentes en el ganglio del trigémino, mientras que las infecciones genitales por HSV-2 dan lugar a la infección latente de los ganglios sacros. La viremia es más frecuente durante las infecciones primarias por HSV-2 que durante las infecciones por HSV-1.

Las infecciones primarias por HSV suelen ser leves; de hecho, la mayor parte es asintomática. Sólo pocas veces sobreviene

CUADRO 33-3 Comparación de los HSV tipo 1 y tipo 2[a]

Características	HSV-1	HSV-2
Bioquímicas		
Composición de las bases del DNA viral (G + C)	67%	69%
Densidad de flotación de DNA (g/cm^3)	1.726	1.728
Densidad de flotación de viriones (g/cm^3)	1.271	1.267
Homología entre los DNA virales	~50%	~50%
Biológicas		
Vectores o reservorios animales	Ninguno	Ninguno
Lugar de latencia	Ganglios del trigémino	Ganglios sacros
Epidemiológicas		
Edad de infección primaria	Niños pequeños	Adultos jóvenes
Transmisión	Contacto (a menudo saliva)	Sexual
Clínica		
Infección primaria:		
Gingivoestomatitis	+	−
Faringoamigdalitis	+	−
Queratoconjuntivitis	+	−
Infecciones neonatales	±	+
Infección recurrente:		
Herpes labial, fuegos	+	−
Queratitis	+	−
Infección primaria o recurrente:		
Herpes cutáneo		
Piel por arriba de la cintura	+	±
Piel por debajo de la cintura	±	+
Manos o brazos	+	+
Panadizo herpético	+	+
Eccema herpético	+	−
Herpes genital	±	+
Encefalitis por herpes	+	−
Meningitis por herpes	±	+

[a]Modificado con autorización de Oxman MN: Herpes stomatitis. En: *Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2nd ed. Braude AI, Davis CE, Fierer J (editors), Saunders, 1986:752.

la enfermedad sistémica. La afectación difusa de órganos surge cuando un hospedador inmunodeprimido no puede limitar la replicación viral y se presenta viremia.

C. Infección latente

El virus reside en ganglios con infección latente en un estado de no replicación; sólo se expresan muy pocos genes virales. La persistencia viral en los ganglios con infección latente dura toda la vida del hospedador. No se puede aislar al virus entre las recidivas en el lugar habitual de las lesiones recidivantes o cerca del mismo. Los estímulos desencadenantes pueden reactivar al virus latente, lo que comprende lesión axonal, fiebre, tensión física o emocional y exposición a la luz ultravioleta. El virus sigue los axones de regreso hacia la periferia y procede la replicación en la piel o en la mucosa. Las reactivaciones espontáneas se presentan en el hospedador pese a la inmunidad humoral y celular específica contra el HSV. Sin embargo, esta inmunidad limita la replicación viral local, de manera que las infecciones recidivantes son menos difusas y menos graves. Muchas recidivas son asintomáticas, sólo se reflejan por la eliminación de los virus en las secreciones. Cuando producen síntomas, los episodios de infección recidivante por HSV-1 suelen manifestarse como herpes labial ("herpes febril") cerca del labio. Más de 80% de la población humana alberga HSV-1 en una forma latente, pero sólo una pequeña porción experimenta recidivas. No se sabe por qué algunas personas presentan reactivaciones y otras no.

Manifestaciones clínicas

HSV-1 y HSV-2 pueden causar muchas enfermedades clínicas y las infecciones pueden ser primarias o recidivantes (cuadro 33-3).

Las infecciones primarias ocurren en personas que no tienen anticuerpos y en la mayoría de los individuos no causan manifestaciones clínicas pero dan por resultado la producción de anticuerpos y el establecimiento de infecciones latentes en los ganglios sensoriales. Las lesiones recidivantes son frecuentes.

A. Lesiones bucofaríngeas

Las infecciones primarias por HSV-1 suelen ser asintomáticas. Las infecciones sintomáticas ocurren muy a menudo en niños pequeños (uno a cinco años de edad) y afectan a la mucosa bucal y gingival de la boca (fig. 33-4A). El periodo de incubación es breve (unos tres a cinco días con una variación de dos a 12 días) y la enfermedad clínica persiste por dos a tres semanas. Los síntomas consisten en fiebre, disfagia, lesiones vesiculares y ulcerosas, gingivoestomatitis y ataque al estado general. La gingivitis (encías hinchadas y dolorosas) constituye la lesión más notable y frecuente. Las infecciones primarias en los adultos suelen ser causa de faringitis y amigdalitis. Puede presentarse una linfadenopatía circunscrita.

La enfermedad recidivante se caracteriza por un conglomerado de vesículas que por lo general se encuentran circunscritas al borde del labio (fig. 33-4B). Se presenta un dolor intenso desde el principio pero cede en el curso de cuatro a cinco días. Las lesiones avanzan a través de las etapas de pústulas y costras y suelen cicatrizar sin fibrosis al cabo de ocho a 10 días. Las lesiones pueden recurrir, varias veces y a intervalos diversos, en la misma ubicación. La frecuencia de las recidivas varía mucho entre los individuos. Diversas recidivas de descamación bucal son asintomáticas y de duración breve (24 h).

B. Queratoconjuntivitis

Las infecciones por HSV-1 pueden presentarse en el ojo y producir una queratoconjuntivitis grave. Las lesiones recidivantes del ojo son frecuentes y aparecen como queratitis dendrítica o úlceras corneales o como vesículas en los párpados. Con la queratitis recidivante puede haber una afectación progresiva del estroma corneal, con opacidad permanente y ceguera. Las infecciones por HSV-1 ocupan el segundo lugar después del traumatismo como una causa de ceguera corneal en Estados Unidos.

C. Herpes genital

La afectación genital suele deberse a HSV-2, aunque HSV-1 también puede ser causa de episodios clínicos de herpes genital. Las infecciones primarias por herpes genital en ocasiones son graves y la enfermedad dura unas tres semanas. El herpes genital se caracteriza por lesiones vesiculoulcerosas del pene en el varón o del cuello uterino, la vulva, la vagina y el perineo de la mujer. Las lesiones son muy dolorosas y suelen acompañarse de fiebre, ataque al estado general, disuria y linfadenopatía inguinal. Las complicaciones son lesiones extragenitales (aproximadamente 20% de los casos) y meningitis aséptica (aproximadamente 10% de los casos). La excreción viral persiste durante unas tres semanas.

Dado que hay una reactividad cruzada antigénica entre HSV-1 y HSV-2, la inmunidad preexistente proporciona cierta protección contra la infección heterotípica. Una infección inicial por HSV-2 en una persona que ya es inmune a HSV-1 tiende a ser menos grave.


A


B

FIGURA 33-4 **A:** Gingivoestomatitis primaria por herpes simple. (Cortesía de JD Millar. Fuente: Centers for Disease Control and Prevention, Public Health Image Library, ID# 2902, 2008). **B:** Herpes simple labial recidivante. (Utilizada con autorización de Berger TG, Dept Dermatology, UCSF. Reproducida de McPhee SJ, Papadakis MA [editors]: *Current Medical Diagnosis & Treatment*, 48th ed. McGraw-Hill, 2009.)

Las recidivas de infecciones herpéticas genitales son frecuentes y tienden a ser leves. Aparece un número limitado de vesículas y cicatrizan en unos 10 días. El virus es eliminado durante sólo algunos días. Algunas recidivas son asintomáticas con eliminación anogenital que persiste por menos de 24 h. Independientemente de la presencia o ausencia de síntomas durante la recidiva, una persona que disemina el virus puede transmitir la infección a sus parejas sexuales.

D. Infecciones cutáneas

La piel intacta es resistente a HSV, de manera que las infecciones cutáneas por HSV son infrecuentes en personas sanas. Las lesiones circunscritas causadas por HSV-1 o HSV-2 pueden presentarse en abrasiones que se contaminan con el virus (herpes traumático). Estas lesiones se observan en los dedos de los dentistas y en el personal hospitalario (panadizo herpético) y en los cuerpos de luchadores (herpes del gladiador o herpes de las colchonetas).

Las infecciones cutáneas suelen ser graves y letales cuando se presentan en personas con trastornos de la piel, como eccemas

o quemaduras, que permiten la replicación viral local extensa y la diseminación. El eccema herpético es una infección primaria, por lo general por HSV-1, en una persona con un eccema crónico. En pocos casos la enfermedad puede ser mortal.

E. Encefalitis

El virus del herpes es capaz de producir una forma grave de encefalitis. Las infecciones por HSV-1 se consideran la causa más frecuente de encefalitis esporádica mortal en Estados Unidos. La enfermedad conlleva una elevada tasa de mortalidad y quienes sobreviven a menudo tienen defectos neurológicos residuales. Casi la mitad de los pacientes con encefalitis por HSV parecen tener infecciones primarias y los restantes al parecer tienen infección recidivante.

F. Herpes neonatal

La infección neonatal por HSV puede adquirirse dentro del útero, durante el parto o después del parto. La madre es la fuente de infección más frecuente en todos los casos. Se estima que el herpes neonatal ocurre en casi 1 de cada 5 000 partos por año. Al parecer, el recién nacido no tiene la capacidad de limitar la replicación y la diseminación de HSV y es propenso a presentar una enfermedad grave.

La vía de infección más frecuente (aproximadamente 75% de los casos) es la transmisión del HSV al recién nacido durante el parto por el contacto con las lesiones herpéticas en el canal del parto. Para evitar la infección, se ha utilizado la cesárea en las mujeres embarazadas con lesiones por herpes genital. Sin embargo, se presentan muchos menos casos de infección de HSV neonatal que de herpes genital recidivante, aun cuando el virus esté presente al término.

El herpes neonatal puede adquirirse después del nacimiento por la exposición a HSV-1 o HSV-2. Las fuentes de infección comprenden los familiares y el personal hospitalario que propagan el virus. Casi 75% de las infecciones neonatales por herpes se debe a HSV-2. No parece haber ninguna diferencia entre las características y la gravedad del herpes neonatal en lactantes prematuros o de término, en las infecciones causadas por HSV-1 o HSV-2, o en la infección en la cual se adquiere el virus durante el parto o el puerperio.

Las infecciones herpéticas neonatales casi siempre son sintomáticas. La tasa de mortalidad global de la infección no tratada es 50%. Los lactantes con herpes neonatal muestran tres categorías de enfermedad: 1) lesiones circunscritas a la piel, los ojos y la boca; 2) encefalitis con o sin afectación cutánea circunscrita, y 3) enfermedad diseminada de múltiples órganos, incluido el sistema nervioso central. El peor pronóstico (tasa de mortalidad de casi 80%) se aplica a los lactantes con infección diseminada, muchos de los cuales presentan encefalitis. La causa de la muerte de los lactantes con enfermedad diseminada suele ser la neumonitis viral o la coagulopatía intravascular. Muchos sobrevivientes de infecciones graves quedan con alteración neurológica permanente.

G. Infecciones en hospedadores inmunodeficientes

Los pacientes inmunodeficientes tienen un mayor riesgo de presentar infecciones graves por HSV. Éstos comprenden a los pacientes inmunodeprimidos por enfermedades o tratamiento (sobre todo los que tienen inmunidad celular deficiente) y los individuos desnutridos. Los receptores de trasplante renal, cardiaco y de médula ósea tienen mayor riesgo de infecciones herpéticas graves. Los pacientes con neoplasias malignas hematológicas y aquellos con sida padecen infecciones más frecuentes y más graves por HSV. Las lesiones herpéticas pueden diseminarse y afectar al sistema respiratorio, el esófago y la mucosa intestinal. Los niños desnutridos son propensos a las infecciones diseminadas y mortales por HSV. En la mayoría de los casos, la enfermedad refleja la reactivación de la infección latente por HSV.

Inmunidad

Muchos recién nacidos adquieren anticuerpos maternos transportados en forma pasiva. Estos anticuerpos se pierden durante los primeros seis meses de vida y el periodo de máxima susceptibilidad a la infección herpética primaria ocurre entre los seis meses y los dos años de edad. Los anticuerpos de la madre adquiridos a través de la placenta no protegen completamente contra la infección de recién nacidos, pero parecen mitigar la infección si no la previenen. Los anticuerpos contra HSV-1 comienzan a aparecer en la población en las primeras etapas de la infancia; hacia la adolescencia, están presentes en la mayoría de las personas. Los anticuerpos contra HSV-2 aumentan durante la adolescencia y la actividad sexual.

En las infecciones primarias, los anticuerpos IgM aparecen en forma transitoria y se acompañan de anticuerpos IgG e IgA que persisten por periodos prolongados. Mientras más grave sea la infección primaria o más frecuentes sean las recidivas, mayor será el grado de respuesta inmunitaria. Sin embargo, el patrón de respuesta de anticuerpos no se ha correlacionado con la frecuencia de recidiva de la enfermedad. La inmunidad mediada por células y los factores inespecíficos del hospedador (linfocitos citolíticos naturales, interferón) son importantes para controlar las infecciones por HSV tanto primarias como recidivantes.

Tras el restablecimiento de una infección primaria (no manifiesta, leve o grave), el virus es transportado en un estado de latencia en presencia de anticuerpos. Estos anticuerpos no evitan la reinfección o la reactivación del virus latente pero pueden modificar la enfermedad subsiguiente.

Diagnóstico de laboratorio

A. Citopatología

Un método citológico rápido consiste en teñir las muestras obtenidas por raspado de la base de la vesícula (p. ej., con tinción de Giemsa); la presencia de células gigantes multinucleadas indica que está presente un herpesvirus (HSV-1, el HSV-2 o varicela zoster), lo que distingue a las lesiones de aquellas causadas por virus de Coxsackie y enfermedades no virales.

B. Aislamiento e identificación del virus

El aislamiento del virus sigue siendo el método diagnóstico definitivo. Se puede aislar de las lesiones herpéticas y también encontrarse en lavados faríngeos, líquido cefalorraquídeo y heces, tanto durante la infección primaria como durante los periodos asintomáticos. Por tanto, el aislamiento de HSV no es en sí una prueba suficiente que indique que el virus es el causante de la enfermedad que se está investigando.

Se utiliza la inoculación de cultivos de tejidos para el aislamiento viral. El HSV es fácil de cultivar y los efectos citopáticos por lo general ocurren en sólo dos a tres días. Luego, se identifica el agente mediante la prueba de Nt o tinción inmunofluorescente con antisuero específico. Se puede realizar la tipificación de cepas de HSV utilizando anticuerpo monoclonal o mediante el análisis de endonucleasa de restricción de DNA viral pero sólo es útil para estudios epidemiológicos.

C. Reacción en cadena de la polimerasa

Se pueden utilizar los análisis de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) para detectar virus y son específicos y sensibles. La amplificación del DNA viral del líquido cefalorraquídeo mediante PCR ha sustituido al aislamiento de los virus en el tejido cerebral obtenido mediante biopsia o en el examen post mortem como el análisis estándar para el diagnóstico específico de las infecciones por HSV del sistema nervioso central.

D. Serología

Aparecen anticuerpos en un lapso de cuatro a siete días después de la infección y alcanzan un máximo en dos a cuatro semanas. Persisten con fluctuaciones leves durante toda la vida del hospedador. Los métodos disponibles son Nt, inmunofluorescencia y ELISA.

La utilidad diagnóstica de los análisis serológicos está limitada por los múltiples antígenos compartidos por HSV-1 y HSV-2. También puede haber algunas respuestas anamnésicas heterotípicas al virus de varicela-zoster en las personas infectadas con HSV y viceversa. El empleo de anticuerpos específicos para HSV, disponibles en algunos laboratorios de investigación, permite pruebas serológicas más significativas.

Epidemiología

HSV tiene una distribución mundial. No hay reservorios animales o vectores relacionados con los virus humanos. La transmisión es por contacto con las secreciones infectadas. Son diferentes las características epidemiológicas de HSV-1 y HSV-2.

Es probable que HSV-1 esté presente con mayor frecuencia en seres humanos que cualquier otro virus. La infección primaria ocurre en las primeras etapas de la vida y suele ser asintomática; a veces produce afectación bucofaríngea (gingivoestomatitis en niños pequeños, faringitis en adultos jóvenes). Aparecen anticuerpos, pero el virus no se elimina del organismo; se establece un estado de portador que persiste de por vida y que se interrumpe por ataques recidivantes y transitorios de herpes.

La incidencia más alta de la infección por HSV-1 ocurre en los niños de seis meses a tres años de edad. Hacia la edad adulta, 70 a 90% de las personas tienen anticuerpos para el tipo 1. Hay una gran tasa de variación geográfica en la seroprevalencia. Los individuos de clase media de países desarrollados adquieren los anticuerpos a una edad más avanzada que aquellos de poblaciones socioeconómicas más bajas. Al parecer, esto refleja las condiciones de mayor hacinamiento y la higiene más deficiente en los últimos. El virus se disemina por el contacto directo con la saliva infectada o a través de utensilios contaminados con la saliva de una persona que disemina el virus. La fuente de infección en los niños suele ser un adulto con una lesión herpética sintomática o con diseminación asintomática del virus en la saliva.

La frecuencia de las infecciones recidivantes por HSV-1 varía entre los individuos. En un determinado momento, 1 a 5% de los adultos normales excretará el virus, a menudo sin presentar síntomas clínicos.

HSV-2 suele adquirirse como una enfermedad de transmisión sexual, de manera que los anticuerpos contra este virus pocas veces se encuentran antes de la pubertad. Se calcula que hay casi 40 a 60 millones de personas infectadas en Estados Unidos. Los estudios de prevalencia de anticuerpos se han complicado por la reactividad cruzada que hay entre los HSV tipos 1 y 2. Las investigaciones recientes en las que se han utilizado antígenos de glucoproteína específicos determinaron que 20% de los adultos estadounidenses posee anticuerpos contra HSV-2, con una seroprevalencia más elevada en las mujeres que en los varones y mayor en los sujetos de raza negra que en los de raza blanca.

Las infecciones genitales recidivantes pueden ser sintomáticas o asintomáticas. Cualquier situación proporciona un reservorio de virus para la transmisión a personas susceptibles. Los estudios han estimado que la transmisión del herpes genital en más de 50% se debió al contacto sexual sin que hubiese lesiones o síntomas.

Las infecciones genitales por HSV en la madre plantean un riesgo tanto para ella como para el feto. Pocas veces las mujeres embarazadas presentan una infección diseminada después de la infección primaria, que se acompaña de una gran tasa de mortalidad. La infección primaria antes de las 20 semanas de gestación se ha relacionado con aborto espontáneo. El feto puede adquirir la infección como resultado de la diseminación viral proveniente de las lesiones recidivantes en el canal del parto al momento del nacimiento. Las cifras de la frecuencia de diseminación cervical del virus en las mujeres embarazadas son muy variables.

Las infecciones genitales por HSV aumentan la adquisición de las infecciones por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) tipo 1, pues las lesiones ulcerosas son orificios en la superficie mucosa.

Tratamiento, prevención y control

Varios fármacos antivirales han resultado eficaces contra las infecciones por HSV, entre ellos, aciclovir, valaciclovir y vidarabina (cap. 30). Todos son inhibidores de la síntesis de DNA viral. El aciclovir es un análogo nucleosídico que es monofosforilado por la timidina cinasa del HSV y luego se convierte en trifosfato por las cinasas celulares. El trifosfato de aciclovir se incorpora eficientemente en el DNA viral gracias a la acción de la polimerasa de HSV, donde evita el alargamiento de la cadena. Los fármacos pueden suprimir las manifestaciones clínicas, abreviar el tiempo transcurrido hasta la cicatrización y disminuir las recidivas de herpes genital. Sin embargo, HSV se mantiene latente en los ganglios sensoriales. Pueden surgir cepas de virus resistentes a los fármacos.

Los recién nacidos y las personas con eccemas se deben proteger del contacto con personas que tienen lesiones herpéticas.

A los pacientes con herpes genital se les debe informar que la diseminación asintomática es frecuente y que el riesgo de transmisión se puede reducir mediante el tratamiento antiviral y el uso del condón.

Se están desarrollando vacunas experimentales de diversos tipos. Un enfoque consiste en utilizar antígenos de glucoproteína purificada que se encuentran en la envoltura viral, que se expresa en algunos sistemas recombinantes. Tales vacunas podrían ser útiles para la prevención de las infecciones primarias. Una vacuna de glucoproteína de HSV-2 recombinante evaluada en un estudio multicéntrico reciente evitó las infecciones herpéticas genitales en las mujeres que eran seronegativas tanto para HSV-1 como para HSV-2; no fue eficaz en mujeres que eran seropositivas para HSV o en los varones.

VIRUS DE VARICELA-ZOSTER

La varicela es una enfermedad leve, muy contagiosa, que afecta principalmente a los niños y que se caracteriza por una erupción vesicular generalizada de la piel y las mucosas. La enfermedad puede ser grave en los adultos y en los niños inmunodeprimidos.

El zoster es una enfermedad incapacitante esporádica que afecta a adultos o individuos inmunodeprimidos y que se caracteriza por un exantema de distribución limitada a la piel inervada por un solo ganglio sensorial. Las lesiones son similares a las de la varicela.

Las dos enfermedades son causadas por el mismo virus. La varicela es la enfermedad aguda que se presenta tras el contacto primario con el virus, en tanto que el zoster es la respuesta del hospedador parcialmente inmune ante la reactivación del virus de la varicela presente en forma latente en las neuronas de los ganglios sensoriales.

Propiedades del virus

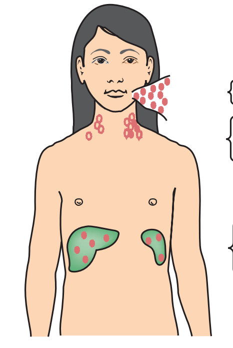
El virus de varicela-zoster es morfológicamente idéntico al HSV. No tiene ningún reservorio animal. El virus se propaga en los cultivos de tejido embrionario humano y produce cuerpos de inclusión intranuclear característicos (fig. 33-3B). Los cambios citopáticos son más focales y la diseminación es mucho más lenta que la producida por el HSV. El virus infeccioso se mantiene muy relacionado con la célula y la propagación serial se logra más fácilmente mediante el paso de las células infectadas que por los líquidos de cultivo de tejido.

El mismo virus produce varicela y zoster. Las cepas virales provenientes de las vesículas de los pacientes con varicela o zoster no muestran ninguna variación genética importante. La inoculación del líquido de la vesícula de zoster en los niños produce varicela.

Patogenia y anatomía patológica

A. Varicela

La vía de infección es la mucosa de las vías respiratorias altas o la conjuntiva (fig. 33-5). Después de la replicación inicial en los ganglios linfáticos regionales, la viremia primaria disemina el virus y lleva a su replicación en el hígado y el bazo. La viremia secundaria que afecta a las células mononucleares infectadas transporta el virus a la piel, donde sobreviene un exantema característico. El edema de las células epiteliales, la degeneración hidrópica y la acumulación de líquidos hísticos da por resultado la formación de vesículas (fig. 33-6).



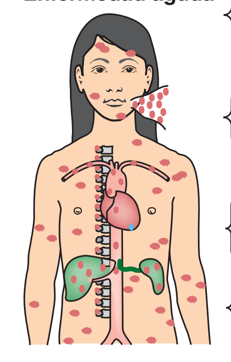


FIGURA 33-5 Patogenia de la infección primaria por el virus de varicela-zoster (VZV). El periodo de incubación en la viremia primaria dura 10 a 21 días. Una fase virémica secundaria da por resultado el transporte del virus a la piel y a las mucosas respiratorias. La replicación de las células epidérmicas produce el exantema característico de la varicela. Es necesaria la inducción de la inmunidad específica contra el virus de varicela-zoster para terminar la replicación viral. El virus logra accesar a las células de los ganglios del trigémino y de la raíz dorsal durante la infección primaria y establece la latencia. (Reproducida con autorización de Arvin AM: Varicella-zoster virus. En: *Fields Virology*, 3rd. ed. Fields BN et al [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

La replicación del virus de varicela-zoster y su diseminación se limitan por las respuestas inmunitarias tanto humorales como celulares. También puede intervenir el interferón.

B. Zoster

Las lesiones cutáneas de zoster son histopatológicamente idénticas a las de la varicela. Asimismo, hay una inflamación aguda de los nervios sensoriales y los ganglios. A menudo solamente un ganglio puede estar afectado. Por regla general, la distribución de las lesiones en la piel corresponde con las zonas de inervación de un ganglio de la raíz dorsal individual.

No se ha esclarecido lo que desencadena la reactivación de las infecciones latentes por el virus de varicela-zoster en los ganglios. Se piensa que el desvanecimiento de la inmunidad permite que ocurra la replicación viral en un ganglio y que cause inflamación intensa y dolor. El virus viaja por todo el nervio hasta la piel y provoca la formación de vesículas. La inmunidad mediada por células probablemente es la defensa más importante del hospedador para contener el virus de varicela-zoster. Las reactivaciones son esporádicas y las recidivas son infrecuentes.

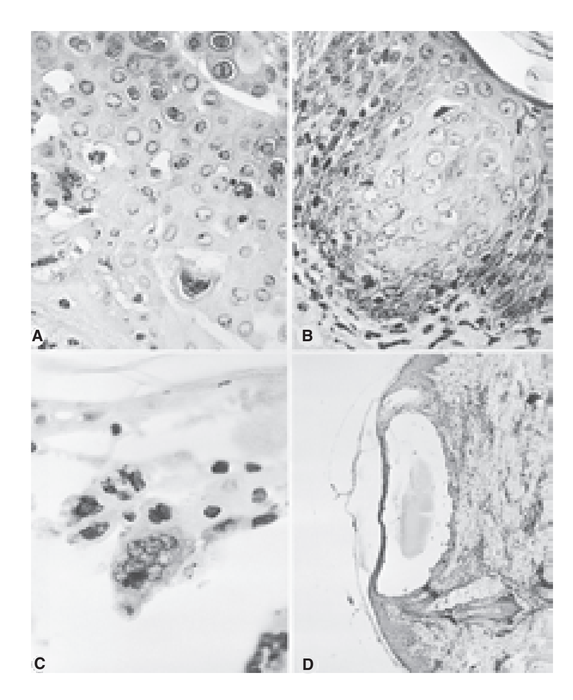


FIGURA 33-6 Cambios histológicos característicos de la infección por el virus de varicela-zoster. Las biopsias en sacabocado de las vesículas del virus de varicela-zoster fueron fijadas y teñidas con hematoxilina y eosina. **A:** Infección inicial que muestra "degeneración hidrópica" de células con núcleos basofílicos y cromatina en los bordes (reducido desde 480×). **B:** Infección ulterior que muestra inclusiones intranucleares eosinofílicas rodeadas por amplias zonas claras (reducido de 480×). **C:** Célula gigante multinucleada en el techo de una vesícula de varicela (reducido de 480×). **D:** Vista de poco aumento de una vesícula inicial que muestra la separación de la epidermis (acantólisis), edema dérmico e infiltración de células mononucleares (reducido de 40×). (Reproducida con autorización de Gelb LD: Varicella-zoster virus. En: *Virology*, 2nd ed. Fields BN et al [editors]. Raven Press, 1990.)

Manifestaciones clínicas

A. Varicela

La varicela asintomática es infrecuente. El periodo de incubación de la enfermedad típica es 10 a 21 días. Los síntomas más incipientes son el ataque al estado general y la fiebre, seguidos poco después de exantema, primero en el tronco y luego en la cara, las extremidades y la mucosa bucal y faríngea. Aparecen vesículas nuevas sucesivas en conglomerados, de manera que pueden verse al mismo tiempo todas las etapas de máculas, pápulas, vesículas y costras (fig. 33-7). El exantema persiste por unos cinco días y la mayoría de los niños presenta varios centenares de lesiones cutáneas.

Las complicaciones son infrecuentes en los niños normales y la tasa de mortalidad es muy baja. La encefalitis ocurre en casos raros y puede ser potencialmente mortal. Algunos de los sobrevivientes de la encefalitis por varicela quedan con secuelas permanentes. En la varicela neonatal, se contrae la infección de la madre inmediatamente antes o después del nacimiento pero sin una respuesta inmunitaria suficiente para modificar la enfermedad. El virus suele diseminarse ampliamente y en ocasiones es mortal. Se han descrito casos del síndrome de varicela congénita tras los casos maternos de varicela durante el embarazo.

La neumonía por varicela es infrecuente en niños sanos pero es la complicación más frecuente en los recién nacidos, en los adultos y en los pacientes inmunodeficientes. Es la causa de muchas muertes relacionadas con la varicela.

Los pacientes inmunodeprimidos tienen un mayor riesgo de complicaciones de varicela, incluidos los sujetos con cáncer, receptores de órganos o infección por VIH y los que reciben dosis altas de corticoesteroides. Es posible que se presente coagulación intravascular diseminada que es rápidamente mortal. Los niños con leucemia son muy propensos a presentar infección diseminada y grave por el virus de la varicela zoster.

B. Zoster

El zoster suele presentarse en personas inmunodeprimidas a consecuencia de enfermedades, tratamiento o envejecimiento, pero a veces se presenta en adultos jóvenes sanos. Por lo general comienza con dolor intenso en la zona de la piel o en la mucosa inervadas por uno o más grupos de los nervios y ganglios sensoriales. A los pocos días después del inicio, aparece un racimo de vesículas sobre la piel inervada por los nervios afectados. Son afectados muy a menudo el tronco, la cabeza y el cuello (fig. 33-8) y la división oftálmica del nervio trigémino resulta afectada en 10 a 15% de los casos. La complicación más frecuente de zoster en los ancianos es la neuralgia posherpética, dolor prolongado que puede continuar durante meses. Es muy frecuente después del zoster oftálmico. La afectación visceral, sobre todo la neumonía, es causa de muerte que ocurre en los pacientes inmunodeprimidos con zoster (<1% de los pacientes).

Inmunidad

Los virus de la varicela y del zoster son idénticos, y las dos enfermedades son resultado de diferentes respuestas del hospedador. Se cree que la infección previa con varicela confiere una inmunidad de por vida contra ella. Los anticuerpos provocados por la vacuna contra la varicela persisten durante un mínimo de 20 años. El zoster se presenta en presencia de anticuerpos neutralizantes contra la varicela.

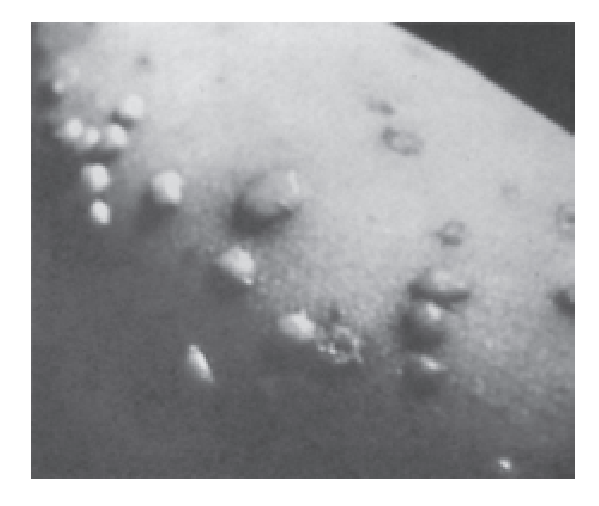
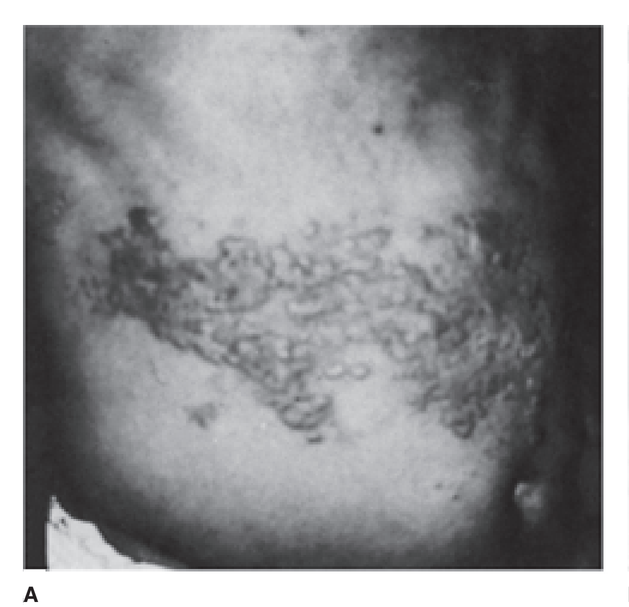


FIGURA 33-7 Múltiples etapas de lesiones cutáneas de la varicela. (Reproducida con autorización de Gelb LD: Varicella-zoster virus. En: *Virology*, 2nd. ed. Fields BN et al [editors]. Raven Press, 1990.)



A



B

FIGURA 33-8 **A:** Herpes zoster en la distribución de los nervios torácicos. (Cortesía de AA Gershon.) **B:** Herpes zoster oftálmico. (Cortesía de MN Oxman, University of California, San Diego. Reproducida con autorización de MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2008;57(RR-5):1.)

En personas con infecciones por HSV pueden presentarse incrementos del título de anticuerpo contra la varicela.

La aparición de inmunidad mediada por células específica contra el virus de varicela-zoster es importante en el restablecimiento tanto de la varicela como del zoster. La aparición del interferón local también contribuye al restablecimiento.

El virus de varicela-zoster, al igual que otros herpesvirus, codifica los medios para evadir las respuestas inmunitarias del hospedador. Por ejemplo, disminuye el complejo de histocompatibilidad mayor de clase I y la expresión del antígeno II.

Diagnóstico de laboratorio

En los frotis teñidos de descamación o exudado de la base de las vesículas (frotis de Tzanck), se observan células gigantes multinucleadas (fig. 33-6). Éstas no se encuentran en las vesículas no herpéticas. Se pueden demostrar antígenos virales intracelulares mediante tinción inmunofluorescente de frotis similares.

Los procedimientos diagnósticos rápidos son clínicamente útiles para el virus de la varicela-zoster. Se pueden detectar antígenos específicos del virus o DNA viral en el líquido de la vesícula, en descamación de la piel o en material de biopsia. Los herpesvirus pueden diferenciarse de los poxvirus por el aspecto morfológico de las partículas en los líquidos de la vesícula analizados mediante microscopia electrónica (fig. 33-9).

El virus se puede aislar del líquido vesicular en las primeras etapas de la evolución de la enfermedad utilizando cultivos de células humanas durante tres a siete días. El virus de varicela-zoster en el líquido de la vesícula es muy lábil y se deben inocular con rapidez los cultivos celulares.

Es posible detectar una elevación del título de anticuerpo específico en el suero del paciente mediante diversas pruebas, como el anticuerpo fluorescente y el enzimoinmunoanálisis. La selección del análisis dependerá del propósito de la prueba y de los recursos de laboratorio disponibles. Es importante la inmunidad mediada por células, pero es difícil demostrarla.

Epidemiología

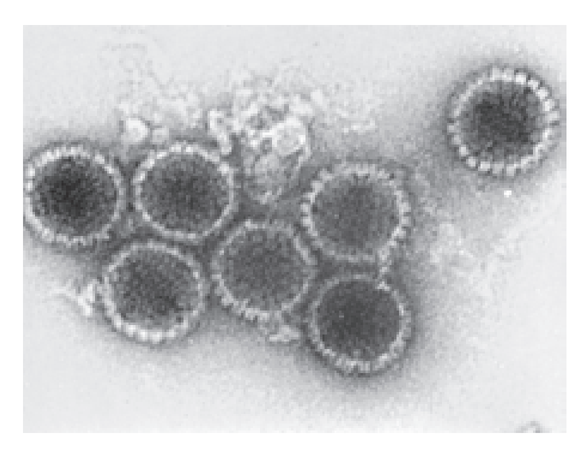
La varicela y el zoster se presentan en todo el mundo. La varicela es muy contagiosa y es una enfermedad epidémica frecuente de la infancia (la mayoría de los casos ocurre en los niños menores de 10 años de edad). Se presentan también casos en adultos. Es mucho más frecuente en el invierno y en la primavera que en el verano en climas templados. El zoster se presenta en forma esporádica, principalmente en adultos y sin una prevalencia estacional. Diez a 20% de los adultos experimentará por lo menos un ataque de zoster durante su vida, por lo general después de los 50 años de edad.

Se dispone de una vacuna contra la varicela de virus vivos atenuados. En la época previa a la vacuna, la varicela era causa de casi cuatro millones de enfermedades, 11 000 hospitalizaciones y 100 defunciones por año en Estados Unidos. Desde el advenimiento de la vacuna en 1995, ha habido una reducción constante en la incidencia de la varicela; sin embargo, los brotes epidémicos de varicela siguen presentándose en niños escolares, pues algunos niños no son vacunados y la vacuna tiene una eficacia de 80 a 85% en las personas vacunadas.

La varicela se disemina fácilmente por las gotitas transportadas en el aire y por el contacto directo. Un paciente con varicela probablemente es contagioso (capaz de transmitir la enfermedad) desde poco antes de la aparición del exantema hasta los primeros días del mismo. La infección por contacto es menos frecuente en el zoster, tal vez porque el virus no se encuentra en las vías respiratorias altas en los casos típicos. Los pacientes con zoster pueden ser la fuente de la varicela en niños susceptibles. Se ha detectado DNA de virus de la varicela-zoster utilizando un método de amplificación de PCR, en muestras de aire de salas de hospitalización de pacientes con varicela activa (82%) e infecciones por zoster (70%).

Tratamiento

La varicela en niños normales es una enfermedad leve y no necesita tratamiento. Se debe tratar a los recién nacidos y a los pacientes inmunodeprimidos con infecciones graves.



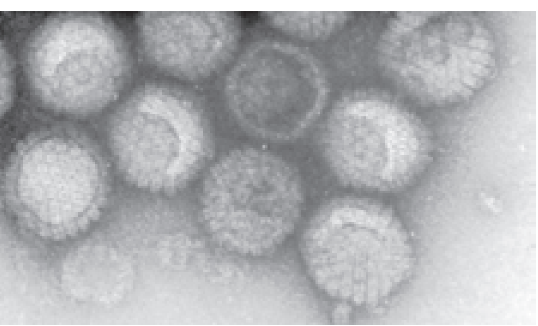


FIGURA 33-9 **Arriba:** Partículas de herpesvirus provenientes de líquido vesicular humano, teñidas con acetato de uranil para demostrar el centro de DNA (140 000×). **Base:** Viriones teñidos para mostrar capsómeros de proteína de la cubierta del virus (140 000×). ***Nota:*** No se pueden distinguir los herpesvirus diferentes mediante microscopia electrónica. (Cortesía de KO Smith y JL Melnick.)

La globulina γ del título alto de anticuerpo contra el virus de varicela-zoster (inmunoglobulina de varicela-zoster) se puede utilizar para prevenir la aparición de la enfermedad de los pacientes expuestos a la varicela que tienen un riesgo elevado de presentar enfermedad grave. No tiene ninguna utilidad terapéutica una vez que ha comenzado la varicela. La inmunoglobulina estándar carece de valor debido al bajo título de anticuerpos de varicela.

El laboratorio fabricante de la única inmunoglobulina de varicela-zoster autorizada en Estados Unidos suspendió su producción en 2004; sin embargo, en 2006 se introdujo un nuevo producto en etapa de investigación (no autorizado). Puede solicitarse para los pacientes con más riesgo de enfermedad grave.

Varios compuestos antivirales proporcionan un tratamiento eficaz para la varicela, entre ellos, aciclovir, valaciclovir, famciclovir y foscarnet. El aciclovir puede prevenir la aparición de enfermedad generalizada en pacientes inmunodeficientes infectados con varicela y puede detener la evolución del zoster en los adultos. Al parecer, aciclovir no evita la neuralgia posherpética.

Prevención y control

Una vacuna contra la varicela de microorganismos vivos atenuados fue autorizada en 1995 para uso general en Estados Unidos. Se ha utilizado con éxito una vacuna similar en Japón durante casi 30 años. La vacuna es muy eficaz para activar la protección contra la varicela en los niños (80 a 85% de eficacia), pero menos en adultos (70%). La vacuna tiene una eficacia de casi 95% para prevenir la enfermedad grave. Alrededor de 5% de las personas presenta un exantema leve relacionado con la vacuna un mes después de la inmunización. La transmisión del virus de la vacuna es infrecuente pero puede presentarse cuando la persona vacunada presenta exantema. Se desconoce la duración de la inmunidad protectora provocada por la vacuna, pero probablemente es a largo plazo. Las infecciones por varicela pueden presentarse en personas vacunadas, pero suelen ser enfermedades leves.

En 2006 se autorizó una vacuna contra zoster en Estados Unidos. Es una versión más potente de la vacuna contra la varicela. Se ha demostrado que es eficaz en adultos mayores para reducir tanto la frecuencia de los brotes de zoster como la gravedad de la enfermedad que se presenta. Se recomienda la vacuna contra zoster en pacientes con trastornos médicos crónicos y en las personas mayores de 60 años de edad.

CITOMEGALOVIRUS

Los citomegalovirus son herpesvirus ubicuos que son causas frecuentes de enfermedad humana. Los citomegalovirus son los agentes de la infección congénita más frecuente.

La citomegalia es una infección generalizada en los lactantes causada por una infección intrauterina o posnatal inicial por los citomegalovirus. El nombre de citomegalia clásica se deriva de la propensión al crecimiento masivo de las células infectadas por citomegalovirus. Este virus plantea un problema de salud pública importante debido a su alta frecuencia de infecciones congénitas, que pueden desencadenar anomalías congénitas graves. La infección no manifiesta es frecuente durante la infancia y la adolescencia. A menudo se detectan infecciones graves por citomegalovirus en adultos inmunodeprimidos.

Propiedades del virus

Citomegalovirus tiene el máximo contenido genético de los herpesvirus humanos. Su genoma de DNA (240 kbp) es significativamente mayor que el de HSV. Sólo se han descrito algunas de las numerosas proteínas codificadas por el virus (más de 200). Una de ellas, una glucoproteína de la superficie celular, actúa como un receptor de Fc que de manera inespecífica se une a la porción Fc de las inmunoglobulinas. Esto puede ayudar a las células infectadas a evadir la eliminación inmunitaria al proporcionar una cubierta protectora de inmunoglobulinas irrelevantes del hospedador.

El principal promotor-intensificador inmediato inicial del citomegalovirus es uno de los intensificadores más potentes conocidos, dada la concentración de los sitios de unión para los factores de transcripción celular. Se utiliza en condiciones experimentales para respaldar la expresión de alto grado de genes ajenos.

Muchas cepas genéticamente diferentes de citomegalovirus circulan en la población humana. Las cepas tienen una relación antigénica suficiente; sin embargo, las diferencias que existen probablemente no son factores importantes que determinan la enfermedad humana.

Los citomegalovirus son muy específicos de especie y específicos de tipo celular. Todos los intentos de infectar a los animales con

citomegalovirus humano han fracasado. Existen diversos citomegalovirus animales, todos los cuales son específicos de especie.

El citomegalovirus humano se replica *in vitro* sólo en fibroblastos humanos, aunque el virus suele aislarse de células epiteliales del hospedador. El citomegalovirus se replica muy lentamente en células cultivadas y el crecimiento procede con más lentitud que el de HSV o el del virus varicela-zoster. Muy pocos virus se separan de las células; la infección se disemina principalmente de una célula a otra. Es posible que se requieran varias semanas para que resulte afectada toda una monocapa de células cultivadas.

Citomegalovirus produce un efecto citopático característico (fig. 33-3C). Se forman inclusiones citoplásmicas perinucleares además de las inclusiones intranucleares características de los herpesvirus. Se observan células multinucleadas. Muchas células afectadas adquieren un gran tamaño. Las células citomegálicas que tienen inclusiones pueden detectarse en muestras de personas infectadas (fig. 33-10).

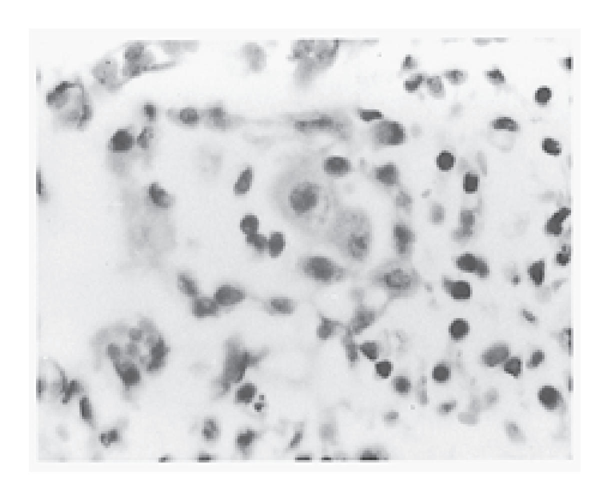


FIGURA 33-10 Células citomegálicas aumentadas de tamaño en forma masiva, típicas de la infección por citomegalovirus presente en el pulmón de un lactante prematuro que murió por citomegalia diseminada. (Cortesía de GJ Demmler.)

Patogenia y anatomía patológica

A. Hospedadores normales

Citomegalovirus puede transmitirse de persona a persona de varias maneras diferentes, y todas exigen un contacto estrecho con el material que contiene el virus. Hay un periodo de incubación de cuatro a ocho semanas en niños mayores y adultos normales después de la exposición al virus. El virus produce una infección generalizada, se ha aislado de pulmón, hígado, esófago, colon, riñones, monocitos y linfocitos T y B. La enfermedad es un síndrome parecido a la mononucleosis infecciosa, aunque la mayor parte de las infecciones por citomegalovirus es leve. Al igual que todos los herpesvirus, citomegalovirus establece infecciones latentes de por vida. Es posible que los virus se eliminen en forma intermitente de la faringe y por la orina durante meses a años después de la infección primaria (fig. 33-11). La infección prolongada del riñón por citomegalovirus no parece ser nociva en personas normales. La afectación de las glándulas salivales es frecuente y probablemente crónica.

La inmunidad mediada por células está deprimida en las infecciones primarias (fig. 33-11) y esto puede contribuir a la persistencia de la infección viral. En ocasiones se requieren varios meses para el restablecimiento de las respuestas celulares.

B. Hospedadores inmunodeprimidos

Las infecciones primarias por citomegalovirus en hospedadores inmunodeprimidos son mucho más graves que en los hospedadores normales. Las personas con máximo riesgo para la enfermedad por citomegalovirus son las receptoras de órganos, las que tienen tumores malignos que están recibiendo quimioterapia y las que padecen sida. La excreción viral se incrementa y se prolonga, y la infección tiene más posibilidades de diseminarse. La neumonía es la complicación más frecuente.

Se supone que la respuesta inmunitaria del hospedador mantiene al citomegalovirus en un estado latente en individuos seropositivos. Las infecciones reactivadas se relacionan con la enfermedad con mucha más frecuencia en pacientes inmunodeprimidos que en hospedadores normales. Aunque por lo general menos graves, las infecciones reactivadas pueden ser tan virulentas como las infecciones primarias.

C. Infecciones congénitas y perinatales

Las infecciones fetales y neonatales por citomegalovirus pueden ser graves (fig. 33-12). Casi 1% de los recién nacidos vivos cada año en Estados Unidos tiene infecciones congénitas por citomegalovirus y alrededor de 5 a 10% de ellos padecerá citomegalia. Un elevado porcentaje de los lactantes con esta enfermedad mostrará defectos del desarrollo y retraso mental.

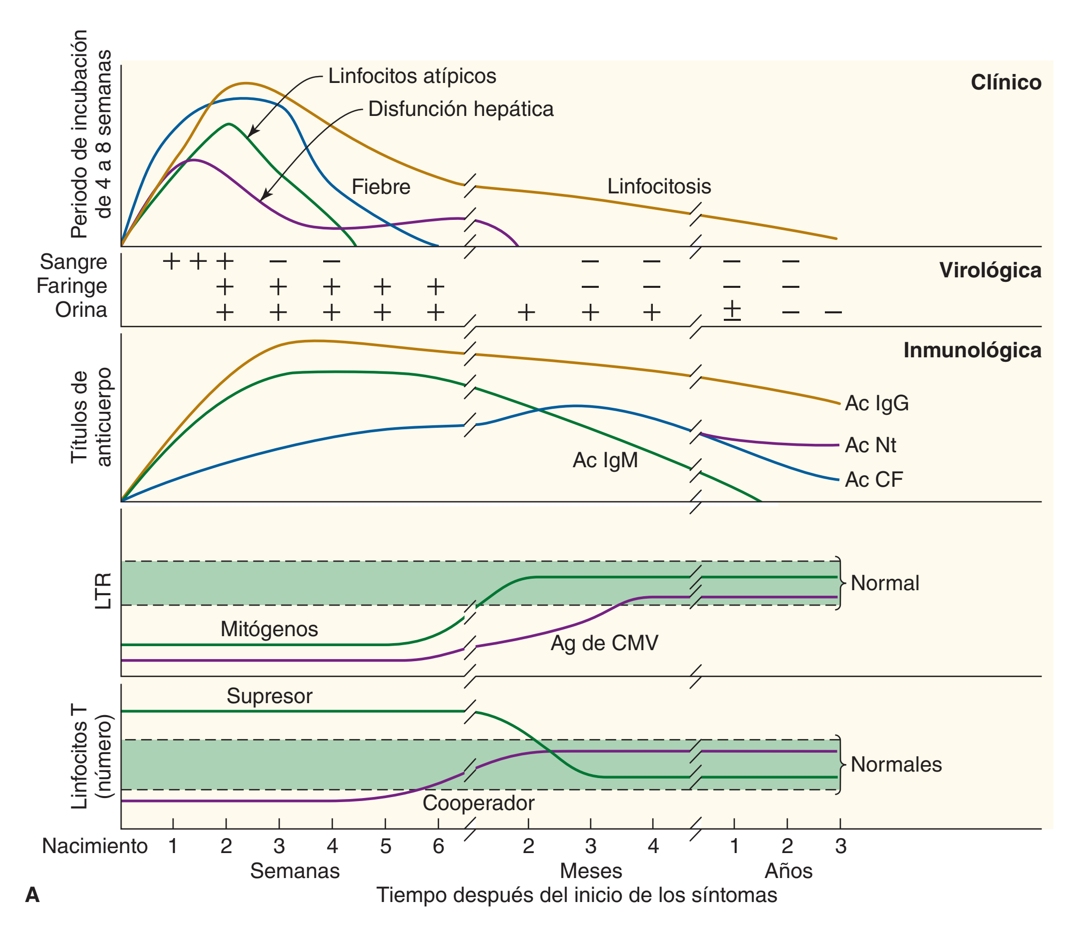
El virus puede transmitirse por vía intrauterina tanto en las infecciones maternas primarias como en las reactivadas. Alrededor de un tercio de las mujeres embarazadas con infección primaria transmite el virus. La citomegalia generalizada muy a menudo es resultado de infecciones maternas primarias. No hay evidencia de que la edad gestacional al momento de la infección materna afecte la expresión de la enfermedad en el feto. La transmisión intrauterina ocurre en cerca de 1% de las mujeres seropositivas. El daño fetal raras veces se debe a estas infecciones maternas reactivadas; la infección del lactante sigue siendo leve aunque crónica (fig. 33-11).

También es posible que el lactante adquiera el citomegalovirus por la exposición al virus en el aparato genital de la madre durante el parto y a través de la leche materna. En estos casos, los lactantes por lo general han recibido algunos anticuerpos maternos y las infecciones por citomegalovirus adquiridas en el periodo perinatal tienden a ser asintomáticas. Las infecciones por citomegalovirus adquiridas a través de transfusiones en los recién nacidos son variables y dependen de la cantidad de virus que se reciba y del estado serológico del donador de sangre. Si el citomegalovirus se adquiere dentro del útero o durante el periodo perinatal, sobreviene una infección más crónica, con respecto a la excreción viral, que cuando el virus se adquiere a una edad ulterior (fig. 33-11).

Manifestaciones clínicas

A. Hospedadores normales

La infección primaria por citomegalovirus en los niños mayores y adultos suele ser asintomática pero a veces produce un síndrome de mononucleosis infecciosa espontánea. Se estima que



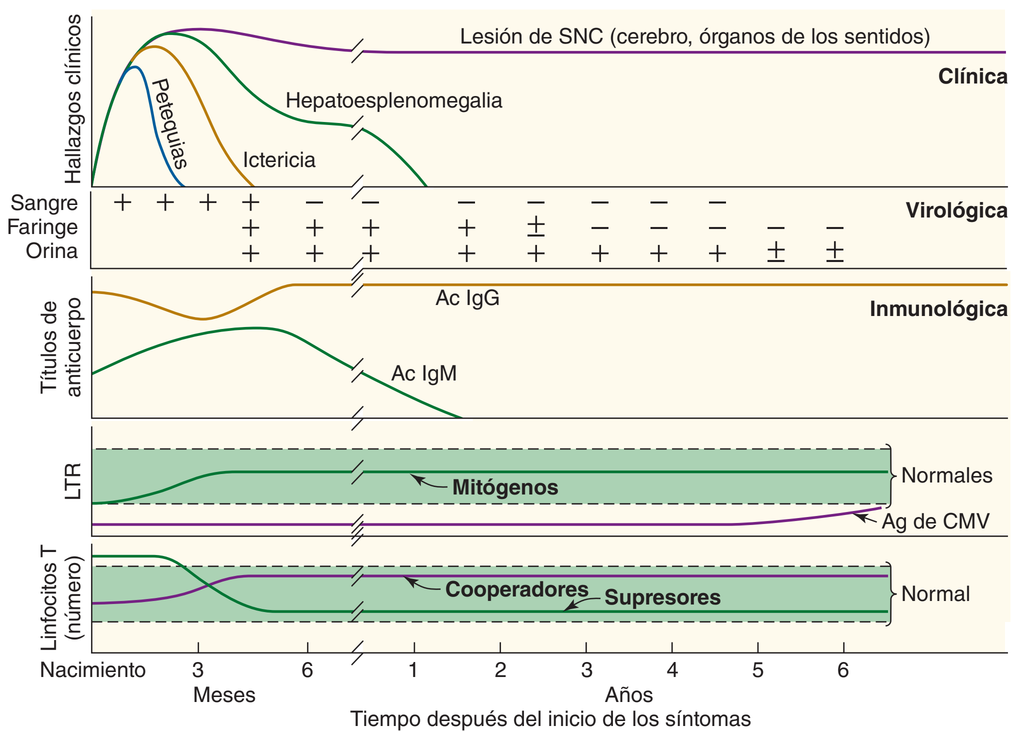


FIGURA 33-11 Características clínicas, virológicas e inmunológicas de la infección por citomegalovirus (CMV). **A:** En individuos normales. **B:** En lactantes con infección congénita. LTR, respuesta de transformación linfocítica. (Reproducida con autorización de Alford CA, Britt WJ: Citomegalovirus. En: *Virology*, 2nd ed. Fields BN et al [editors]. Raven Press, 1990.)

citomegalovirus causa 20 a 50% de los casos de mononucleosis heterófilo negativos (no EBV).

La mononucleosis por citomegalovirus es una enfermedad leve y pocas veces se presentan complicaciones. Es frecuente la hepatitis asintomática. En los niños más pequeños (menores de siete años de edad) a menudo se observa hepatoesplenomegalia.

Se ha observado una relación entre la presencia de citomegalovirus y la reestenosis después de una angioplastia coronaria. Se conjetura que el virus puede contribuir a la proliferación de las células de músculo liso, lo cual desencadena la reestenosis.

B. Hospedadores inmunodeprimidos

Hay un incremento de las tasas de morbilidad y mortalidad por infecciones primarias y recidivantes por citomegalovirus en personas inmunodeprimidas. La neumonía es una complicación frecuente. La neumonitis intersticial causada por citomegalovirus se presenta en 10 a 20% de los receptores de trasplante de médula ósea. La leucopenia relacionada con el virus es frecuente en receptores de órganos sólidos; también se observa bronquiolitis restrictiva en trasplantes pulmonares, ateroesclerosis del injerto después de un trasplante cardiaco y rechazo de aloinjertos renales relacionados con citomegalovirus. Citomegalovirus a menudo produce enfermedad diseminada en pacientes con sida no tratados; son problemas frecuentes la gastroenteritis y la coriorretinitis y esta última a menudo desencadena ceguera progresiva.

C. Infecciones congénitas y perinatales

La infección congénita puede ocasionar la muerte del feto dentro del útero (fig. 33-12). La citomegalia de los recién nacidos se caracteriza por la afectación del sistema nervioso central y el sistema reticuloendotelial. Las manifestaciones clínicas consisten en retraso del crecimiento intrauterino, ictericia, hepatoesplenomegalia, trombocitopenia, microcefalia y retinitis. Las tasas de mortalidad ascienden a 20%, aproximadamente. La mayoría de los sobrevivientes presentará defectos importantes del sistema nervioso central al cabo de dos años; son frecuentes la sordera grave, las anomalías oculares y el retraso mental. Alrededor de 10% de los lactantes con infección congénita por citomegalovirus asintomática presentará sordera. Se ha calculado que uno de cada 1 000 recién nacidos en Estados Unidos presenta retraso grave como consecuencia de una infección por citomegalovirus congénita.

Muchas mujeres infectadas previamente con citomegalovirus muestran reactivación y comienzan a excretar el virus por el cuello uterino durante el embarazo. En el momento del parto a través del conducto del parto infectado los lactantes se infectan, aunque poseen altos títulos de anticuerpo materno adquiridos a través de la placenta. Estos lactantes comienzan a diseminar el virus más o menos a las ocho a 12 semanas de edad. Continúan excretándolo durante varios años pero se mantienen sanos.

La infección adquirida por citomegalovirus es frecuente y por lo general no se manifiesta. El virus se disemina por la saliva y la orina de personas infectadas durante semanas o meses. Citomegalovirus puede ser una causa de neumonía aislada en lactantes menores de seis meses de edad.

Inmunidad

En Estados Unidos, los anticuerpos contra citomegalovirus en los seres humanos aumentan con la edad, desde casi 40% en adolescentes a más de 80% en personas mayores de 60 años de edad. La reactivación de la infección latente ocurre en presencia de inmunidad humoral. Los anticuerpos de la leche materna no evitan la transmisión de la infección a los lactantes. Los anticuerpos

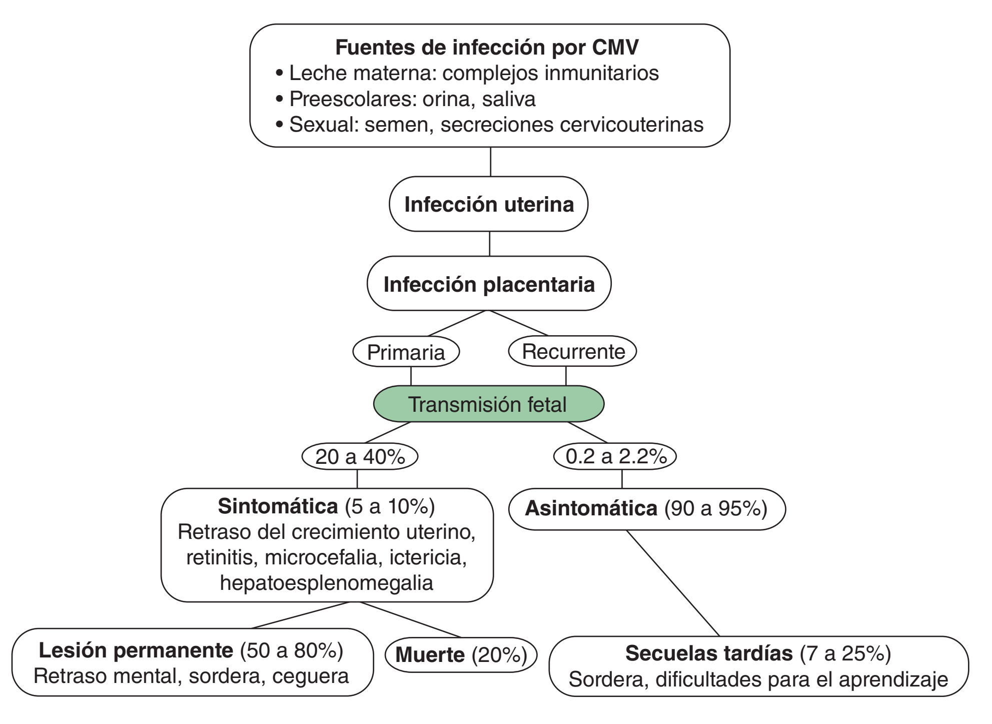


FIGURA 33-12 Infecciones congénitas por citomegalovirus y anomalías congénitas en niños sintomáticos y asintomáticos. Citomegalovirus es el microorganismo que produce la infección intrauterina más frecuente que se acompaña de anomalías congénitas. (Reproducida con autorización de Pereira L et al: Insights into viral transmission at the uterine-placental interface. Trends Microbiol 2005;13:164.)

maternos protegen más contra la aparición de enfermedad grave en el lactante que contra la transmisión viral.

Diagnóstico de laboratorio

A. Reacción en cadena de la polimerasa y análisis de detección de antígeno

Los análisis de PCR han sustituido al aislamiento del virus en la detección sistemática de las infecciones por citomegalovirus. Los métodos de cultivo celular del aislamiento viral son demasiado lentos para ser de utilidad como guía del tratamiento, sobre todo en los pacientes inmunodeprimidos. Los análisis de PCR están diseñados para detectar el virus en replicación, no los genomas virales latentes. La sangre y la orina son las que se analizan con más frecuencia. Los análisis de PCR pueden proporcionar datos sobre la densidad viral, lo cual al parecer es importante para pronosticar la enfermedad por citomegalovirus. Es posible utilizar los anticuerpos monoclonales contra los antígenos virales para detectar leucocitos positivos para el virus en los pacientes.

B. Aislamiento del virus

Se utilizan fibroblastos humanos para tratar de aislar el virus. El virus puede obtenerse muy fácilmente de los lavados faríngeos y de la orina. En los cultivos suelen necesitarse dos a tres semanas para que aparezcan los cambios citológicos, los cuales consisten en pequeños focos de células hinchadas y translúcidas con grandes inclusiones intranucleares (fig. 33-3C y D). El virus se mantiene asociado a la célula.

C. Análisis serológico

Muchos tipos de análisis permiten detectar anticuerpos IgG contra citomegalovirus, indicativos de una infección previa (y el potencial de que se experimente reactivación). La detección de anticuerpos IgM virales señala una infección activa. Los análisis serológicos no son informativos en los pacientes inmunodeprimidos. Asimismo, las técnicas serológicas no permiten distinguir las diferencias de cepas entre las aisladas.

Epidemiología

Citomegalovirus es endémico en todas las partes del mundo; se desconocen las epidemias. Se presenta durante todo el año y no se observa ninguna variación estacional en las tasas de infección.

La prevalencia de la infección varía según la posición socioeconómica, las condiciones de vivienda y las prácticas de higiene. La prevalencia de anticuerpo puede ser moderada (40 a 70%) en los adultos de grupos socioeconómicos altos de los países desarrollados, en contraste con una prevalencia de 90% en niños y adultos de países en vías de desarrollo y de grupos socioeconómicos bajos en los países desarrollados.

Las infecciones nuevas casi siempre son asintomáticas. Después de la infección, el virus se propaga desde múltiples sitios. La diseminación viral puede continuar durante años, a menudo de manera intermitente, conforme se reactiva el virus latente. Por consiguiente, las exposiciones a citomegalovirus son amplias y frecuentes.

Los seres humanos son el único hospedador del citomegalovirus. Para la transmisión es necesario el contacto interpersonal estrecho. El virus puede eliminarse por orina, saliva, semen, leche materna y secreciones cervicouterinas y es transportado en los leucocitos circulantes. La diseminación oral y respiratoria probablemente son las vías predominantes de la transmisión de citomegalovirus. El citomegalovirus puede transmitirse por transfusiones sanguíneas. El riesgo estimado es muy variable pero es de casi 1 a 5% por unidad de sangre completa. Los receptores de órgano sólido seronegativos corren riesgo, ya que un órgano seropositivo transmite el virus en 60 a 80% de los casos.

La infección intrauterina puede producir enfermedad grave en el recién nacido. Casi 1% de los lactantes nacidos en Estados Unidos se infecta por citomegalovirus. La mayoría tiene infecciones leves pero crónicas; 5 a 10% tiene citomegalia con defectos concomitantes del desarrollo y una elevada mortalidad. Las infecciones congénitas, sean leves o clínicamente manifiestas, producen infecciones crónicas, con diseminación viral detectable durante años. Un número mucho mayor de lactantes se infecta con citomegalovirus en los primeros meses de vida, a menudo por leche materna infectada o por el contagio en las guarderías. La mayor parte de estas infecciones es leve pero por lo general es crónica y hay una diseminación persistente del virus.

La transmisión intrauterina ocurre en casi 40% de las infecciones primarias de las madres. Tales infecciones maternas primarias durante el embarazo son causa de casi todos los casos de citomegalia. Los lactantes y los niños con infecciones por citomegalovirus leves constituyen la principal fuente de exposición. Otras infecciones congénitas se deben a reactivaciones de infecciones maternas latentes. La transmisión intrauterina por tales reactivaciones es infrecuente (aproximadamente 1%).

Las infecciones por citomegalovirus se incrementan mucho en pacientes inmunodeprimidos; los receptores de trasplante a menudo presentan infecciones, la mayor parte de las cuales se debe a reactivaciones de sus propios virus latentes.

Tratamiento y control

Se ha demostrado que los tratamientos farmacológicos de las infecciones por citomegalovirus producen algunos resultados alentadores. El ganciclovir, un nucleósido estructuralmente relacionado con aciclovir, se ha utilizado eficazmente para tratar las infecciones por citomegalovirus que ponen en riesgo la vida en pacientes inmunodeprimidos. La gravedad de la retinitis por citomegalovirus, esofagitis y colitis se reduce con ganciclovir. Además, el tratamiento inicial con este último fármaco disminuye la frecuencia de neumonía por citomegalovirus en receptores de aloinjerto de médula ósea. Ganciclovir también controla la sordera progresiva en recién nacidos con infecciones congénitas. Foscarnet, un análogo del pirofosfato inorgánico, se recomienda para tratar la retinitis por citomegalovirus. El aciclovir y el valaciclovir han demostrado algunas ventajas en los pacientes con trasplante de médula ósea y renal.

No se dispone de medidas de control específicas para evitar la diseminación de citomegalovirus. Es recomendable el aislamiento de los recién nacidos con citomegalia generalizada transmitida por otros recién nacidos.

La detección sistemática de los donadores y receptores de trasplante para identificar anticuerpos contra citomegalovirus evita algunas transmisiones de citomegalovirus primario. La población de receptores de trasplante seronegativos para citomegalovirus representa un grupo de alto riesgo para infecciones por citomegalovirus. La administración de IgG humana preparada

a partir de reservas de plasma obtenidas de personas sanas con altos títulos de anticuerpos contra citomegalovirus (inmunoglobulina de citomegalovirus) ha producido resultados contradictorios en las pruebas para disminuir la frecuencia de las infecciones virales en los receptores de trasplante. La inmunoglobulina de citomegalovirus tiene un abastecimiento escaso.

Se ha recomendado el empleo de sangre de donadores seronegativos cuando los lactantes necesitan transfusiones múltiples. Este método eliminaría las infecciones por citomegalovirus adquiridas con las transfusiones pero es difícil de poner en práctica.

Se están desarrollando vacunas contra citomegalovirus tanto de microorganismos vivos como recombinantes.

VIRUS DE EPSTEIN-BARR

El virus EBV es un herpesvirus ubicuo que es causa de la mononucleosis infecciosa aguda y se relaciona con carcinoma nasofaríngeo, linfoma de Burkitt, linfoma de Hodgkin y linfomas no hodgkinianos, otros trastornos linfoproliferativos en individuos inmunodeficientes y carcinoma gástrico.

Propiedades del virus

El genoma de DNA del EBV contiene alrededor de 172 kbp, tiene un contenido de G + C de 59% y codifica unos 100 genes. Hay dos cepas principales de EBV (tipos A y B).

A. Biología del virus de Epstein-Barr

La principal célula afectada por el EBV es el linfocito B. Cuando los linfocitos B humanos se infectan con EBV, se pueden establecer estirpes celulares continuas, lo que indica que las células han sido inmortalizadas por el virus. Muy pocas de las células inmortalizadas producen virus infecciosos. Los estudios de laboratorio de EBV se dificultan por la falta de un sistema celular completamente permisivo que pueda propagar el virus.

EBV inicia la infección de los linfocitos B al unirse al receptor viral, que es el receptor para el componente C3d del complemento (CR2 o CD21). EBV entra directamente en un estado latente en el linfocito sin experimentar un periodo de replicación viral completa. Las características distintivas de la latencia son la persistencia viral, la expresión restringida del virus y el potencial de reactivación y replicación lítica.

La eficiencia de la inmortalización del linfocito B por EBV es muy alta. Cuando el virus se une a la superficie celular, las células se activan para entrar en el ciclo celular. Después, se expresa una gama limitada de genes de EBV y las células pueden proliferar por tiempo indefinido. El genoma de EBV lineal forma un círculo y se amplifica durante la fase S del ciclo celular; la mayor parte del DNA viral en las células inmortalizadas existe como episomas circulares.

Los linfocitos B inmortalizados por EBV expresan diferentes funciones, como la secreción de inmunoglobulina. Los productos de activación del linfocito B (p. ej., CD23) también se expresan. Se reconocen varios patrones de expresión de genes virales latentes, basándose en la gama de proteínas y transcritos expresados. Éstos comprenden los antígenos nucleares de EBV (EBNA1, 2, 3A a 3C, LP), proteínas de membrana latentes (LMP1, 2) y pequeños RNA no traducidos (EBER).

En un determinado momento, muy pocas células (<10%) en una población inmortalizada liberan partículas virales. La latencia se altera y el genoma de EBV se activa para replicarse en una célula por diversos estímulos, como los agentes químicos activadores o entrecruzamiento con la inmunoglobulina de la superficie celular.

EBV se puede replicar *in vivo* en células epiteliales de bucofaringe, glándulas parótidas y cuello uterino; se detecta en células epiteliales de algunos carcinomas nasofaríngeos. Aunque las células epiteliales *in vivo* contienen un receptor de EBV, el receptor se pierde de las células cultivadas.

EBV puede producir diversos trastornos linfoproliferativos. La expresión del gen viral en estas células es limitada y varía desde sólo EBNA1 hasta el complemento completo de proteínas que se encuentran en las células B con infección latente.

B. Antígenos virales

Los antígenos de EBV se dividen en tres clases, con base en la fase del ciclo vital del virus en la cual se expresan: 1) Los antígenos de fase latente son sintetizados por las células con infección latente. Éstos comprenden los EBNA y los LMP. Su expresión revela que hay un genoma de EBV. Sólo se expresa invariablemente EBNA1, necesario para mantener los episomas de DNA viral; la expresión de otros antígenos de fase latente puede ser regulada en diferentes células. LMP1 se parece a un receptor de factor de crecimiento activado. 2) Los antígenos iniciales son proteínas no estructurales cuya síntesis no depende de la replicación de DNA viral. La expresión de los antígenos iniciales indica la aparición de la replicación viral productiva. 3) Los antígenos tardíos son los componentes estructurales de la cápside viral (antígeno de la cápside viral) y la envoltura viral (glucoproteína). Se producen abundantemente en las células sometidas a infección viral productiva.

C. Infecciones en animales de experimentación

EBV es muy específico de especie en seres humanos. Sin embargo, los tamarinos cabeza de algodón inoculados con EBV a menudo presentan linfomas malignos mortales.

Patogenia y anatomía patológica

A. Infección primaria

EBV suele transmitirse por la saliva infectada e inicia una infección en la bucofaringe. La replicación viral ocurre en las células epiteliales (o los linfocitos B de la superficie) de la faringe y las glándulas salivales. Muchas personas propagan bajas concentraciones de virus durante semanas a meses después de la infección. Los linfocitos B infectados difunden la infección desde la bucofaringe a todo el organismo. En personas normales la mayor parte de las células infectadas con el virus son eliminadas, pero algunos linfocitos con infección latente persisten durante toda la vida en el hospedador (uno en 10^5 a 10^6 linfocitos B).

Las infecciones primarias en los niños suelen ser asintomáticas, pero si se presentan en adultos jóvenes a menudo sobreviene una mononucleosis infecciosa aguda. La mononucleosis es una estimulación policlonal de los linfocitos. Los linfocitos B infectados con EBV sintetizan inmunoglobulina. Los autoanticuerpos son característicos de la enfermedad y el anticuerpo heterófilo que reacciona con los antígenos en los eritrocitos de carnero es el autoanticuerpo característico.

B. Reactivación a partir de la latencia

Se pueden presentar reactivaciones de las infecciones latentes por EBV, según se pone de manifiesto por un incremento de las concentraciones del virus en la saliva y en el DNA de los eritrocitos. Éstos suelen ser clínicamente asintomáticos. Se sabe que la inmunosupresión reactiva la infección, a veces con consecuencias graves.

Manifestaciones clínicas

La mayor parte de las infecciones primarias en los niños es asintomática. En los adolescentes y en los adultos jóvenes, el síndrome característico relacionado con la infección primaria es la mononucleosis infecciosa (alrededor de 50% de las infecciones). El EBV también se relaciona con varios tipos de cáncer.

A. Mononucleosis infecciosa

Tras un periodo de incubación de 30 a 50 días se presentan síntomas de cefalea, fiebre, ataque al estado general, fatiga y faringitis. Son características la adenomegalia y la esplenomegalia. Algunos pacientes presentan signos de hepatitis.

La enfermedad clásica suele ceder espontáneamente y dura dos a cuatro semanas. Durante la enfermedad, hay un incremento del número de leucocitos circulantes con predominio de linfocitos. Muchos de éstos son linfocitos T atípicos. La febrícula y el ataque al estado general pueden persistir durante semanas a meses después de la enfermedad aguda. Las complicaciones son infrecuentes en los hospedadores normales.

B. Cáncer

EBV se relaciona con el linfoma de Burkitt, el carcinoma nasofaríngeo, el linfoma de Hodgkin y los linfomas no hodgkinianos, y el carcinoma gástrico. Los trastornos linfoproliferativos postrasplante relacionados con EBV constituyen una complicación en los pacientes inmunodeprimidos. Los sueros de los pacientes con linfoma de Burkitt o carcinoma nasofaríngeo contienen concentraciones elevadas de anticuerpo contra los antígenos específicos de virus y los tejidos tumorales contienen DNA de EBV y expresan un número limitado de genes virales.

El linfoma de Burkitt es un tumor de la mandíbula en niños africanos y adultos jóvenes (cap. 43). La mayoría de los tumores africanos (>90%) contienen DNA de EBV y expresan antígeno EBNA1. En otros lugares del mundo, sólo cerca de 20% de los linfomas de Burkitt contiene DNA de EBV. Se conjetura que EBV puede participar en las etapas iniciales del linfoma de Burkitt al inmortalizar a los linfocitos B. El paludismo, un cofactor reconocido, puede favorecer el crecimiento del total de células infectadas por EBV. Por último, hay translocaciones cromosómicas características en las que participan genes de la inmunoglobulina y dan por resultado la pérdida del control de la expresión del protooncogén c-*myc*.

El carcinoma nasofaríngeo es un cáncer de células epiteliales y es frecuente en varones de origen chino. El DNA de EBV se encuentra con regularidad en las células de carcinoma nasofaríngeo y los pacientes tienen altas concentraciones de anticuerpos contra EBV. Se expresan EBNA1 y LPM1. Se piensa que los factores genéticos y ambientales son importantes en la patogenia del carcinoma nasofaríngeo.

Los pacientes inmunodeprimidos son susceptibles a las enfermedades linfoproliferativas provocadas por EBV que pueden ser mortales. De 1 a 10% de los pacientes con trasplante presenta un trastorno linfoproliferativo relacionado con EBV, a menudo al experimentar una infección primaria. Pueden presentarse linfomas de linfocitos B monoclonales agresivos.

Los pacientes con sida son susceptibles a los linfomas relacionados con EBV y leucoplasia vellosa bucal, una masa verrugoide que aparece en la lengua; es un foco epitelial de replicación de EBV. Prácticamente todos los linfomas no hodgkinianos que afectan al sistema nervioso central se relacionan con EBV, en tanto que menos de 50% de los linfomas sistémicos es positivo para EBV. Además, EBV se relaciona con la enfermedad de Hodgkin clásica, de manera que el genoma viral se detecta en las células malignas de Reed-Sternberg hasta en 50% de los casos.

Inmunidad

Las infecciones por EBV desencadenan una respuesta inmunitaria intensa que consta de anticuerpos dirigidos contra muchas proteínas específicas de virus, diversas respuestas mediadas por células y secreción de linfocinas. La inmunidad celular y los linfocitos T citotóxicos son importantes para limitar las infecciones primarias y controlar las infecciones crónicas.

Las pruebas serológicas para determinar el tipo de anticuerpos específicos a diferentes clases de antígenos de EBV constituyen el medio habitual de confirmar el estado de un paciente con respecto a la infección por EBV.

Diagnóstico de laboratorio

A. Aislamiento e identificación del virus

La hibridación de ácido nucleico es el medio más sensible para detectar EBV en secreciones del paciente. El RNA de EBER se expresa en forma abundante en las células infectadas de manera latente y lítica y proporcionan un blanco diagnóstico útil para detectar células infectadas por EBV mediante hibridación. Es posible demostrar antígenos virales directamente en tejidos linfoides y en carcinomas nasofaríngeos. Durante la fase aguda de la infección, alrededor de 1% de los linfocitos circulantes tendrá marcadores de EBV; después de restablecerse de la infección, alrededor de 1 de cada millón de linfocitos B portará el virus.

El EBV se puede aislar de saliva, sangre periférica o tejido linfoide mediante la inmortalización de los linfocitos humanos normales, por lo general obtenidos de sangre del cordón umbilical. Este análisis es laborioso y tardado (seis a ocho semanas), exige recursos especializados y pocas veces se lleva a cabo. También es posible cultivar linfocitos B "transformados en forma espontánea" a partir del DNA de EBV de pacientes infectados con el virus. Cualquier agente inmortalizado que se obtenga se confirma como EBV mediante la detección de DNA de EBV o antígenos específicos del virus en los linfocitos inmortalizados.

EBV está presente en la saliva de muchos pacientes inmunodeprimidos. Hasta 20% de los adultos sanos también tendrá lavados faríngeos positivos para el virus.

B. Análisis serológico

Los procedimientos serológicos frecuentes para detectar anticuerpos contra EBV son las pruebas de ELISA, las pruebas de

inmunotransferencia y las pruebas inmunofluorescentes indirectas que utilizan células linfoides positivas para EBV.

En la figura 33-13 se muestra el patrón típico de respuestas de anticuerpo a antígenos específicos de EBV después de una infección primaria. En las primeras etapas de la enfermedad aguda, ocurre una elevación transitoria de los anticuerpos IgM contra el antígeno de la cápside viral, que es remplazada a las pocas semanas por anticuerpos IgG contra este antígeno, el cual persiste de por vida. Poco después, aparecen anticuerpos contra el antígeno inicial que persisten por varios meses. Varias semanas después de la infección aguda, aparecen anticuerpos contra EBNA y el antígeno de membrana y persisten de por vida.

La prueba de aglutinación heterófila menos específica se puede utilizar para diagnosticar infecciones por EBV. Durante el curso de la mononucleosis infecciosa, la mayoría de los pacientes presenta anticuerpos heterófilos transitorios que aglutinan células de carnero. Son convenientes las pruebas clínicas disponibles en el comercio. Las relaciones antigénicas accidentales proporcionan la especificidad de esta reacción heterófila.

Los análisis serológicos para anticuerpos contra EBV exigen cierta interpretación. La presencia de anticuerpos IgM contra el antígeno de la cápside viral indica una infección activa. Los anticuerpos IgG contra el antígeno de la cápside viral constituyen un marcador de infección previa e indican inmunidad. Los anticuerpos contra antígeno iniciales por lo general son signo de una infección viral activa, aunque tales anticuerpos suelen detectarse en pacientes con linfoma de Burkitt y carcinoma nasofaríngeo. Los anticuerpos contra antígenos de EBNA revelan una infección previa por EBV, no obstante, la detección de un aumento de anticuerpos anti-EBNA indicaría infección primaria. No todas las personas presentan anticuerpos contra EBNA.

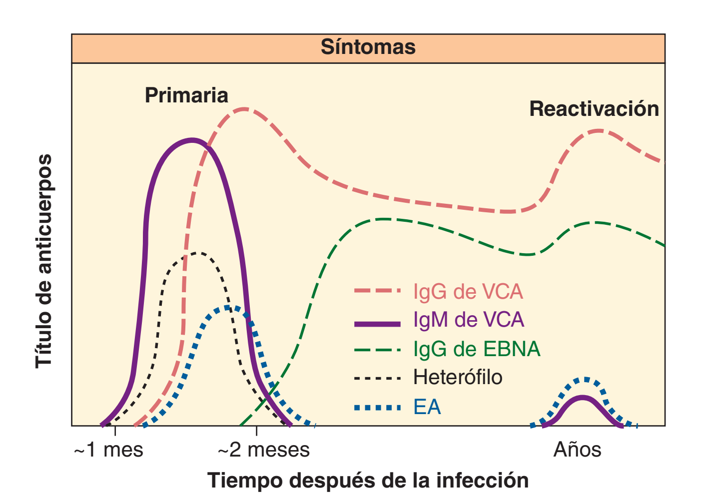


FIGURA 33-13 Patrón típico de formación de anticuerpos a antígenos específicos de EBV después de una infección primaria. Los individuos con infección reciente tienen anticuerpos IgM e IgG contra el antígeno de la cápside viral (IgM de VCA, IgG de VCA); sólo los anticuerpos IgG persisten por años. Se desarrollan anticuerpos heterófilos transitorios que pueden aglutinar las células de carnero. Se forman anticuerpos contra los antígenos iniciales (EA, *early antigen*) en muchos pacientes y persisten por varios meses. Algunas semanas después de la infección aguda, aparecen anticuerpos contra los antígenos relacionados con el antígeno nuclear de EBV (EBNA) y antígenos de membrana y persisten de por vida. (Reimpresa de Gulley ML, Tang W: Laboratory assays for Epstein-Barr virus-related disease. J Mol Diagnost 2008;10:279-292 con autorización de la American Society for Investigative Pathology y la Association for Molecular Pathology.)

Epidemiología

EBV es frecuente en todos los lugares del mundo y más de 90% de los adultos es seropositivo. Se transmite principalmente por el contacto con las secreciones bucofaríngeas. En países en vías de desarrollo, las infecciones se presentan a una temprana edad; más de 90% de los niños está infectado a los seis años de edad. Estas infecciones en las primeras etapas de la infancia por lo general ocurren sin que haya ninguna enfermedad reconocible. Las infecciones no manifiestas producen una inmunidad permanente contra la mononucleosis infecciosa. En los países industrializados, más de 50% de las infecciones por EBV se retrasa hasta el final de la adolescencia y la edad adulta joven. En casi la mitad de los casos, la infección se manifiesta por mononucleosis infecciosa. Se estiman unos 100 000 casos de mononucleosis infecciosa cada año en Estados Unidos.

Prevención, tratamiento y control

No se dispone de ninguna vacuna contra EBV.

Aciclovir reduce la propagación de EBV a partir de la bucofaringe durante el periodo de administración del fármaco, pero no afecta el número de linfocitos B inmortalizados por EBV. Aciclovir no tiene ningún efecto sobre los síntomas de mononucleosis y no tiene ninguna utilidad demostrada en el tratamiento de los linfomas relacionados con EBV en los pacientes inmunodeprimidos.

La transferencia adoptiva de linfocitos T reactivos a EBV muestra perspectivas favorables como tratamiento de la enfermedad linfoproliferativa relacionada con EBV.

HERPESVIRUS HUMANO 6

El herpesvirus humano linfótropo T 6 fue reconocido por primera vez en 1986. Los primeros aislados se obtuvieron de cultivos de células mononucleares de sangre periférica proveniente de pacientes con trastornos linfoproliferativos.

Propiedades del virus

El DNA viral tiene un tamaño de casi 160 a 170 kbp y tiene una composición media de 43 a 44% (G + C). La disposición genética del genoma del herpesvirus humano 6 es parecida a la del citomegalovirus humano.

Al parecer, el herpesvirus humano 6 no tiene ninguna relación antigénica con los otros herpesvirus humanos conocidos, con excepción de cierta reactividad cruzada limitada con el herpesvirus humano 7. Las cepas de herpesvirus humanos 6 se dividen en dos grupos antigénicos muy relacionados pero diferentes (designados A y B).

El virus crece bien en los linfocitos T CD4. Otros tipos de células también apoyan la replicación viral, incluidos los linfocitos B y las células de origen neuroglial, fibroblastoide y megacariocítico. Las células de la bucofaringe deben infectarse, ya que el virus está presente en la saliva. No se sabe cuáles células del

organismo presentan una infección latente. El CD46 humano es el receptor celular del virus.

Epidemiología y hallazgos clínicos

Los estudios seroepidemiológicos que han utilizado pruebas de inmunofluorescencia para anticuerpos séricos o análisis de PCR para el DNA viral en la saliva o en las células sanguíneas han demostrado que el herpesvirus humano 6 tiene una amplia distribución en la población. Se estima que más de 90% de los niños mayores de un año de edad y los adultos es positivo para el virus.

Las infecciones por herpesvirus humano 6 suelen presentarse en las primeras etapas de la infancia. Esta infección primaria produce un exantema súbito (roséola infantil o exantema súbito), la leve enfermedad infantil frecuente que se caracteriza por fiebre elevada y exantema. La variante 6B al parecer es la causa de esta enfermedad. El virus se relaciona con convulsiones febriles en los niños.

Se piensa que el mecanismo de transmisión del herpesvirus humano 6 es a través de las secreciones bucales. El hecho de que sea un microorganismo ubicuo indica que debe eliminarse hacia el medio ambiente desde un portador infectado.

Las infecciones persisten de por vida. La reactivación al parecer es frecuente en los pacientes con trasplante y durante el embarazo. Las consecuencias de la infección reactivada aún no se han determinado. La reactivación del herpesvirus humano 6 ocurre en casi la mitad de los pacientes que se someten a trasplante de hemocitoblastos. Estas reactivaciones ocurren poco después del trasplante y se han relacionado con retraso de la aceptación del trasplante, disfunción del sistema nervioso central y mayor mortalidad.

HERPESVIRUS HUMANO 7

Un herpesvirus humano linfótropo T, designado herpesvirus humano 7, se aisló por primera vez en 1990 a partir de los linfocitos T activados obtenidos de linfocitos de sangre periférica de una persona sana.

El herpesvirus humano 7 es inmunológicamente diferente al herpesvirus humano 6, aunque comparten casi 50% de homología en el DNA.

El herpesvirus humano 7 al parecer es un microorganismo ubicuo y casi todas las infecciones se presentan en la infancia pero a una edad mayor que la observada con el herpesvirus humano 6. Se establecen infecciones persistentes en glándulas salivales y se puede aislar el virus de la saliva de la mayoría de las personas. En un estudio longitudinal de adultos sanos, 75% de los sujetos excretaba el virus infeccioso en la saliva una o más veces durante un periodo de observación de seis meses. De un modo similar al herpesvirus humano 6, la infección primaria por herpesvirus humano 7 se ha relacionado con la roséola infantil en los lactantes y niños pequeños. Aún no se ha establecido alguna relación con otra enfermedad para el herpesvirus humano 7.

HERPESVIRUS HUMANO 8

Un nuevo herpesvirus, designado herpesvirus humano 8, y también denominado KSHV, fue detectado por primera vez en 1994 en muestras de sarcoma de Kaposi. El KSHV es un virus linfótropo y está más íntimamente relacionado con el EBV y el herpesvirus saimiri que otros herpesvirus conocidos. El genoma de KSHV (alrededor de 165 kbp) contiene múltiples genes relacionados con los genes reguladores que intervienen en la proliferación celular, la apoptosis y las respuestas del hospedador (ciclina D, citocinas, receptor de quimiocina) que supuestamente contribuyen a la patogenia viral. Esta piratería molecular de genes reguladores de células es una característica notable del virus. KSHV es la causa de los sarcomas de Kaposi, los tumores vasculares de composición celular mixta e interviene en la patogenia de los linfomas que aparecen en cavidades del cuerpo y que ocurren en pacientes con sida o enfermedad de Castleman multicéntrica.

KSHV no es tan ubicuo como otros herpesvirus; casi 5% de la población general en Estados Unidos y en Europa del norte tiene datos serológicos de la infección por KSHV. El contacto con las secreciones bucales quizá es la vía de transmisión más frecuente. El virus también se puede transmitir por vía sexual, en forma vertical, a través de la sangre, y por medio del trasplante de órganos. Asimismo, se ha detectado DNA viral en muestras de leche materna en África. Las infecciones son frecuentes en África (>50%) y se adquieren a una edad temprana.

El DNA viral se puede detectar en muestras de pacientes mediante los análisis de PCR. El cultivo directo del virus es difícil e impráctico. Se dispone de análisis serológicos para medir anticuerpos persistentes contra KSHV, utilizando inmunofluorescencia indirecta, Western blot (inmunotransferencia) y formatos de ELISA.

Foscarnet, ganciclovir y cidofovir tienen actividad contra la replicación de KSHV. La frecuencia de nuevos sarcomas de Kaposi está muy reducida en los pacientes infectados con VIH que reciben tratamiento antirretroviral eficaz, lo que probablemente refleja la vigilancia inmunitaria reconstituida contra las células infectadas por el KSHV.

VIRUS B

El virus del herpes B de los monos del Viejo Mundo es muy patógeno en seres humanos. La transmisión del virus al ser humano es limitada pero las infecciones que ocurren conllevan una elevada tasa de mortalidad (alrededor de 60%). La enfermedad por el virus del herpes B en seres humanos es una mielitis ascendente aguda con encefalomielitis.

Propiedades del virus

El virus B es un herpesvirus característico que es natural en los macacos, los monos del Viejo Mundo en Asia. El virus B es enzoótico en los monos rhesus, cynomolgus y otros macacos (del género *Macaca*). Se designa como herpesvirus cercopitécido I que remplaza al nombre antiguo de *Herpes simiae.* Su organización genómica es similar a la del HSV, y muchos genes tienen una disposición colineal. Su genoma es 75% G + C, el más alto entre los herpesvirus. Al igual que con todos los herpesvirus, el virus B establece infecciones latentes en hospedadores infectados. El virus crece bien en cultivos de riñón de mono, riñón de conejo y células humanas con un ciclo de crecimiento breve. Los efectos citopáticos son similares a los de HSV.

Patogenia y anatomía patológica

Las infecciones por el virus B causan enfermedad en los monos rhesus. Es posible que se presenten lesiones vesiculares de la bucofaringe parecidas a las provocadas en el ser humano por el HSV. También se presentan lesiones genitales. Muchos monos rhesus son portadores de infecciones latentes por el virus B que pueden activarse bajo condiciones de estrés.

El virus es transmisible a otros monos, conejos, cobayos, ratas y ratones. Los conejos suelen presentar infecciones mortales después de la inoculación del virus B.

Las infecciones por el virus B en el ser humano suelen deberse a una mordedura de mono, aunque es factible la infección por la vía respiratoria o la exposición a salpicaduras oculares. La característica notable de las infecciones por el virus B en seres humanos es la gran propensión a producir afectación neurológica. Muchos sobrevivientes quedan con alteraciones neurológicas.

Epidemiología y manifestaciones clínicas

El virus de la hepatitis B se transmite por el contacto directo con el virus o material que lo contiene. La transmisión ocurre entre los monos del género *Macaca,* entre monos y seres humanos y raras veces entre humanos. El virus puede estar presente en saliva, líquidos conjuntivales y vesiculares, regiones genitales y heces de monos. Puede ocurrir transmisión respiratoria. Otras fuentes de infección son el contacto directo con las jaulas de animales y con cultivos de células de monos infectados.

La infección en el hospedador natural pocas veces se acompaña de enfermedad evidente. Las infecciones por el virus B son muy frecuentes en colonias de monos rhesus. La seroprevalencia en animales adultos es de 70% o más. Puesto que las infecciones latentes pueden reactivarse, los animales seropositivos son reservorios para la transmisión de las infecciones por el virus B. La frecuencia de la excreción del virus B por los monos probablemente no es superior a 3%.

Las personas que trabajan con animales y que tienen contacto con monos macacos corren el riesgo de adquirir infección por el virus B, entre ellos investigadores médicos, veterinarios, propietarios de mascotas y trabajadores de zoológicos. Los individuos que tienen contacto íntimo con personas que trabajan con animales y se exponen a los monos también tienen cierto riesgo.

Tratamiento y control

No se dispone de ningún tratamiento específico una vez que se manifiesta la enfermedad clínica. Sin embargo, se recomienda el tratamiento con aciclovir inmediatamente después del contagio. No se ha demostrado que la globulina γ constituya un tratamiento eficaz para las infecciones por el virus B humano. No se dispone de ninguna vacuna.

El riesgo de infecciones por el virus B se puede reducir mediante procedimientos adecuados en el laboratorio y en la manipulación y el manejo de macacos. Este riesgo hace que los macacos no sean mascotas apropiadas.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un niño de tres años de edad previamente sano presenta una enfermedad viral infantil clásica. ¿Cuál de las siguientes infecciones virales principales de la infancia suele ser asintomática?
(A) Citomegalovirus
(B) EBV
(C) Virus de la hepatitis B
(D) Virus de la varicela-zoster
(E) Parvovirus B19
2. ¿Cuál de los siguientes es un tratamiento recomendado para la infección genital por HSV?
(A) Aciclovir
(B) Vacuna de virus vivo atenuado
(C) Inmunoglobulina del herpes
(D) Interferón α
(E) Ribavirina
3. Casi todas las infecciones por herpesvirus son endémicas en todo el mundo. ¿Cuál de los siguientes virus muestra diferencias geográficas notables en la seroprevalencia?
(A) Citomegalovirus
(B) EBV
(C) HSV-2
(D) KSHV
(E) Virus de varicela-zoster
4. Una estudiante universitaria de 19 años de edad presenta fiebre, faringitis y linfadenopatía que se acompañan de linfocitosis con células atípicas y un incremento de las aglutininas de células de carnero. El diagnóstico más probable es
(A) Hepatitis infecciosa
(B) Mononucleosis infecciosa
(C) Varicela
(D) Infección por herpes simple
(E) Meningitis viral
5. Un frotis de Tzanck de un raspado obtenido de una vesícula en la piel demuestra células gigantes multinucleadas. ¿Con cuál de los siguientes virus se relacionan las células gigantes multinucleadas?
(A) Varicela-zoster
(B) Viruela mayor
(C) Virus de Coxsackie
(D) Molusco contagioso
6. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones con respecto a los herpesvirus β no es correcta?
(A) Establecen infecciones latentes y persisten por tiempo indefinido en hospedadores infectados
(B) Son reactivados en los pacientes inmunodeprimidos
(C) Casi todas las infecciones son asintomáticas
(D) Pueden infectar células linfoides
(E) Tienen ciclos de crecimiento citolíticos breves en células cultivadas
7. Una mujer de 28 años de edad tiene herpes genital recidivante. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a las infecciones herpéticas genitales es correcta?
(A) La reactivación del virus latente durante el embarazo no plantea ninguna amenaza para el recién nacido
(B) El virus no se puede transmitir cuando no hay lesiones manifiestas
(C) Los episodios recidivantes debidos a reactivación del virus latente tienden a ser más graves que la infección primaria
(D) Pueden deberse a HSV-1 o a HSV-2
(E) Es posible encontrar HSV latente en células dendríticas
8. ¿Cuál de los siguientes virus produce un síndrome parecido a la mononucleosis y se excreta en la orina?
(A) Citomegalovirus
(B) EBV
(C) Herpesvirus humano 6
(D) Virus de varicela-zoster
(E) HSV-2

9. Una mujer de 53 años de edad presenta fiebre y signos neurológicos focales. Las imágenes de resonancia magnética muestran una lesión en el lóbulo temporal izquierdo. ¿Cuál de las siguientes pruebas sería más apropiada para confirmar un diagnóstico de encefalitis por herpes simple en esta paciente?
   (A) Biopsia de cerebro
   (B) Frotis de Tzanck
   (C) Análisis de PCR para DNA viral en el líquido cefalorraquídeo
   (D) Prueba serológica para anticuerpo IgM viral
10. ¿Cuál de los siguientes tumores es causado por un virus diferente al EBV?
   (A) Linfomas postrasplante
   (B) Enfermedad de Hodgkin
   (C) Sarcoma de Kaposi
   (D) Linfomas no hodgkinianos del sistema nervioso central relacionados con sida
   (E) Linfoma de Burkitt
11. Un brote epidémico de un exantema denominado "herpes de la colchoneta" ocurrió entre estudiantes de secundaria que compitieron en un torneo de lucha. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es la más exacta?
   (A) El exantema no es contagioso entre los luchadores
   (B) El microorganismo causante es HSV-1
   (C) El microorganismo causante es varicela-zoster
   (D) Las lesiones suelen persistir durante un mes o más
   (E) Se debe vacunar a los estudiantes antes de que participen en torneos de lucha libre
12. ¿En cuál de los siguientes grupos se recomienda la vacuna contra zoster?
   (A) Adolescentes sanos
   (B) Personas mayores de 60 años de edad
   (C) Mujeres embarazadas
   (D) Los que nunca han tenido varicela
13. La infección congénita más frecuente es causada por
   (A) Virus de varicela-zoster
   (B) HSV-2
   (C) Herpesvirus humano 8 (KSHV)
   (D) Citomegalovirus
   (E) Parvovirus
14. ¿Cuál de los siguientes grupos tiene más riesgo de contraer herpes zoster?
   (A) Personas de edad avanzada
   (B) Pacientes con dermatitis atópica
   (C) Mujeres embarazadas
   (D) Personas que se han vacunado con vacuna contra la varicela
   (E) Lactantes con infecciones congénitas

Respuestas

1. D	5. A	9. C	13. D
2. A	6. E	10. C	14. A
3. D	7. D	11. B	
4. B	8. A	12. B	

BIBLIOGRAFÍA

Ashley RL, Wald A: Genital herpes: Review of the epidemic and potential use of type-specific serology. Clin Microbiol Rev 1999;12:1. [PMID: 9880471]

Espy MJ et al: Real-time PCR in clinical microbiology: Applications for routine laboratory testing. Clin Microbiol Rev 2006;19:165. [PMID: 16418529]

Gulley ML, Tang W: Laboratory assays for Epstein-Barr virus-related disease. J Mol Diagnost 2008;10:279. [PMID: 18556771]

Hassan J, Connell J: Translational mini-review series on infectious disease: Congenital cytomegalovirus infection: 50 years on. Clin Exp Immunol 2007;149:205. [PMID: 17635529]

Hengel H, Brune W, Koszinowski UH: Immune evasion by cytomegalovirus—Survival strategies of a highly adapted opportunist. Trends Microbiol 1998;6:190. [PMID: 9614343]

Huff JL, Barry PA: B-virus (*Cercopithecine herpesvirus* 1) infection in humans and macaques: Potential for zoonotic disease. Emerging Infect Dis 2003;9:246. [PMID: 12603998]

Kimberlin DW, Whitley RJ: Human herpesvirus-6: Neurologic implications of a newly-described viral pathogen. J Neurovirol 1998;4:474. [PMID: 9839645]

Knipe DM et al (editors): Herpesviridae. In: *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007. [9 chapters]

Prevention of herpes zoster. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2008;57(RR-5):1.

Prevention of varicella. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1996;45(RR-11):1.



C A P Í T U L O

34

Poxvirus

Entre los virus, los poxvirus son los de mayor tamaño y los más complejos. La familia incluye un gran grupo de agentes que muestran semejanza morfológica y comparten un antígeno nucleoproteínico común. A las infecciones por casi todos los miembros de esta familia les caracteriza una erupción, aunque algunas lesiones inducidas por unos cuantos miembros de la misma son extraordinariamente proliferativas. El grupo incluye el virus de la viruela, causante de dicha enfermedad, que ha afectado al género humano desde que se tienen registros históricos.

A pesar de que después de la campaña intensiva coordinada por la Organización Mundial de la Salud se declaró que la viruela había sido erradicada, ha surgido la preocupación de que el virus pueda ser utilizado de nuevo, como un arma biológica. La profesión médica siempre debe conocer en detalle lo referente al virus de la vaccinia o enfermedad vacuna (utilizado en la vacuna antivariolosa) y sus complicaciones posibles en los seres humanos. Se requiere también saber todo lo referente a enfermedades por otros poxvirus que se asemejan a veces a la viruela y que es necesario diferenciar por medio de estudios de laboratorio. Por último, el virus de la enfermedad vacuna se ha estudiado en forma intensiva para servir como vector para la introducción de genes de inmunización activa, en la forma de vacunas a base de virus vivos contra diversas virosis de humanos y animales domésticos.

PROPIEDADES DE LOS POXVIRUS

En el cuadro 34-1 se señalan las propiedades importantes de los poxvirus.

Estructura y composición

Los poxvirus tienen tamaño suficiente para ser identificados por el microscopio corriente como partículas con rasgos poco característicos. En el microscopio electrónico su aspecto es el de partículas rectangulares o elipsoides que miden 300 a 400 × 230 nm. Su estructura es compleja y no cumple con las normas de simetría icosaédrica o helicoidal. La superficie externa de las partículas contiene bordes. Los virus cuentan con una membrana lipoproteínica externa, o cubierta, que rodea el centro o núcleo, y dos estructuras de función desconocida llamadas cuerpos laterales (fig. 34-1).

El centro o núcleo contiene el gran genoma viral con DNA lineal bicatenario (130 a 375 kbp). Se ha identificado la secuencia genómica completa de algunos poxvirus, como el de la enfermedad vacuna y la viruela. El genoma de la primera contiene 185 codones de lectura abierta. El DNA contiene repeticiones terminales invertidas de longitud variable y las cadenas (o cordones) están conectadas en los extremos por asas terminales en forma de horquilla. Las repeticiones terminales invertidas pueden incluir regiones codificadoras, de manera que algunos genes están presentes en ambos extremos del genoma. El DNA tiene abundantes bases de adenina y timina.

La composición química de un poxvirus se asemeja a la de una bacteria. El virus de la enfermedad vacuna está compuesto predominantemente de proteínas (90%), lípidos (5%) y DNA (3%). En partículas virales se han detectado más de 100 polipéptidos estructurales. Algunas de las proteínas están glucosiladas o fosforiladas. Los lípidos son colesterol y fosfolípidos.

El virión contiene muy diversas enzimas que incluyen un sistema de transcripción que sintetiza, efectúa la poliadenilación, interviene en la adquisición de una cubierta, y realiza la metilación del mRNA del virus.

CUADRO 34-1 Propiedades importantes de los poxvirus

Virión: Estructura compleja de forma oval o rectangular, con 300 a 400 nm de longitud × 230 nm de diámetro; en su superficie externa hay bordes; contiene cuerpos centrales y laterales
Composición: DNA (3%), proteínas (90%), lípidos (5%)
Genoma: DNA bicatenario, lineal; tamaño: 130 a 375 kbp; posee asas terminales; su contenido de G + C es pequeño (30 a 40%) excepto *Parapoxvirus* (63%)
Proteínas: Los viriones contienen más de 100 polipéptidos; en su zona central o núcleo tienen innumerables enzimas, incluidas las que participan en el sistema de transcripción
Envoltura: El ensamblado del virión entraña la formación de múltiples membranas
Replicación: Fábricas citoplásmicas
Características sobresalientes: Constituyen algunos de los virus de mayor tamaño y complejidad; son muy resistentes a la inactivación Las proteínas codificadas por virus permiten evadir el sistema de defensa inmunitaria del hospedador La viruela fue la primera enfermedad viral que pudo ser erradicada a nivel mundial


A


B

FIGURA 34-1 Micrografía electrónica de los viriones de vaccinia (*Orthopoxvirus*). **A:** Partícula con tinción negativa aunque se observan bordes y elementos tubulares en la superficie (228 000×). (Con autorización de Dales S: J Cell Biol 1963;18:51.) **B:** Corte fino de un virión de vaccinia en donde se observa un centro bicóncavo, dos cuerpos laterales y una membrana exterior (220 000×). (Con autorización de Pogo BGT, Dales S: Proc Natl Acad Sci USA 1969; 63:820.)

Clasificación

Los poxvirus se dividen en dos subfamilias, según infecten hospedadores vertebrados o insectos. Los poxvirus de vertebrados incluyen nueve géneros y los miembros de un género particular muestran similitudes en su morfología y en su predilección por hospedadores y también algunos vínculos antigénicos o semejanzas.

Muchos de los poxvirus que causan enfermedades en seres humanos pertenecen a los géneros *Orthopoxvirus* y *Parapoxvirus*; también otros más se clasifican dentro de los géneros *Yatapoxvirus* y *Molluscipoxvirus* (cuadro 34-2).

Los ortopoxvirus tienen predilección por muy diversos hospedadores y afectan a algunos vertebrados; comprenden los virus de ectromelia (viruela murina), y los que causan las viruelas de caballos, ganado vacuno, simios, enfermedad vacuna y viruela. Las últimas cuatro afectan a humanos. El virus de enfermedad vacuna (vaccinia) difiere sólo en pequeños aspectos morfológicos de los virus de varicela y viruela vacuna. En lo que se refiere a estructura y replicación, constituye el prototipo de los poxvirus. El virus de la viruela símica infecta roedores, monos y seres humanos y el cuadro clínico que ocasiona puede asemejarse al de la viruela. Algunos poxvirus tienen predilección por pocos hospedadores e infectan solamente conejos (fibroma y mixoma), o aves. Otros infectan principalmente ovejas y cabras (viruela ovina o caprina) o ganado vacuno (enfermedad paravacuna o nódulo de los ordeñadores).

Los parapoxvirus tienen características morfológicas peculiares. En comparación con los ortopoxvirus, los virus comentados son un poco más pequeños (partículas de 260 × 160 nm) y en su superficie presentan una disposición “cruzada” (fig. 34-2). Su genoma es menor (unos 135 kbp) y su contenido de guanina y citosina es mayor (63%) que el de los ortopoxvirus (170 a 250 kbp; G + C, 30 a 40%).

Todos los poxvirus que afectan vertebrados comparten un antígeno nucleoproteínico común en el núcleo interno. Surge de actividad serológica cruzada en virus dentro de un género particular, pero la reactividad es muy pequeña de un género a otro. En consecuencia, la vacunación con el virus de enfermedad vacuna (vaccinia) no protege de enfermedades inducidas por parapoxvirus o poxvirus no clasificados.

CUADRO 34-4 Poxvirus que causan enfermedad en humanos

Género	Virus	Hospedador primario	Enfermedad
Orthopoxvirus	Varicela	Humanos	Viruela (eliminada en la actualidad)
	Enfermedad de variolovacuna (vaccinia)	Humanos	Lesión localizada; se utiliza para vacunación antivariolosa
	Viruela del búfalo	Búfalo de río	Son raras las infecciones de humanos; lesión localizada
	Viruela símica	Roedores, monos,	Son raras las infecciones de humanos; enfermedad generalizada
	Viruela vacuna	Vacas	Las infecciones en humanos son raras; lesión ulcerosa localizada
Parapoxvirus	Ectima contagioso	Ovejas	Son raras las infecciones de humanos; lesión localizada
	Paravacuna	Vacas	
	Estomatitis papulosa bovina	Vacas	
Molluscipoxvirus	Molusco contagioso	Humanos	Muchos nódulos cutáneos benignos
Yatapoxvirus	Tanapox	Monos	Son raras las infecciones de humanos; lesión localizada
	Yabapox	Monos	Son muy raras y accidentales las infecciones de humanos; tumores cutáneos localizados

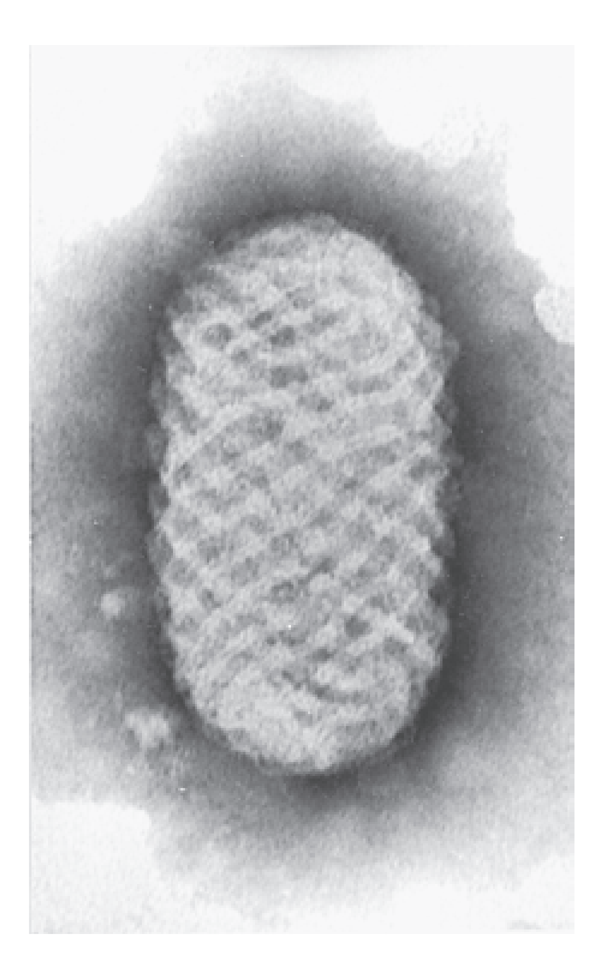


FIGURA 34-2 Micrografía electrónica del virus del ectima contagioso (*Parapoxvirus*). Se advierte la imagen característica en entramado en la superficie (200 000×). (Por cortesía de FA Murphy y EL Palmer.)

Replicación del poxvirus

El ciclo de replicación del virus en la enfermedad vacuna se resume en la figura 34-3. Los poxvirus tienen la particularidad, entre los DNAvirus, de que el ciclo completo de multiplicación ocurre en el citoplasma de las células infectadas. Sin embargo, es posible que participen factores nucleares en la transcripción y el ensamblado del virión. Los poxvirus se diferencian todavía más de los demás virus que afectan animales, en que para la fase de pérdida de la cubierta se necesita una proteína recién sintetizada codificada por el virus.

A. Fijación, penetración y pérdida de la envoltura

Las partículas virales establecen contacto con la superficie celular y se fusionan con la membrana de las células. Algunas partículas pueden estar dentro de las vacuolas. Los centros virales son liberados en el interior del citoplasma. Entre las enzimas del interior de la partícula del poxvirus, se encuentra una polimerasa de RNA viral que transcribe la mitad, aproximadamente, del genoma viral en el mRNA inicial. Estas formas iniciales son transcritas en el interior del centro viral para ser liberadas en el citoplasma de las células. Dentro del "núcleo" viral están las enzimas necesarias y por ello los inhibidores de la síntesis proteínica no afectan la transcripción en su fase inicial. La proteína que se ocupa de la pérdida de la envoltura que actúa en el centro viral es uno de los más de 50 polipéptidos sintetizados poco después de comenzar la infección. La segunda etapa en la pérdida de la envoltura libera del centro DNA viral; para sus funciones necesitará de la síntesis de RNA y de proteínas. Precisamente en esa fase se impide la síntesis de las macromoléculas de las células del hospedador.

Los poxvirus inactivados por calor pueden ser reactivados por acción de poxvirus viables o partículas del mismo tipo, inactivadas por las mostazas nitrogenadas (que inactivan el DNA); se conoce a dicho proceso como **reactivación no genética** y depende de la

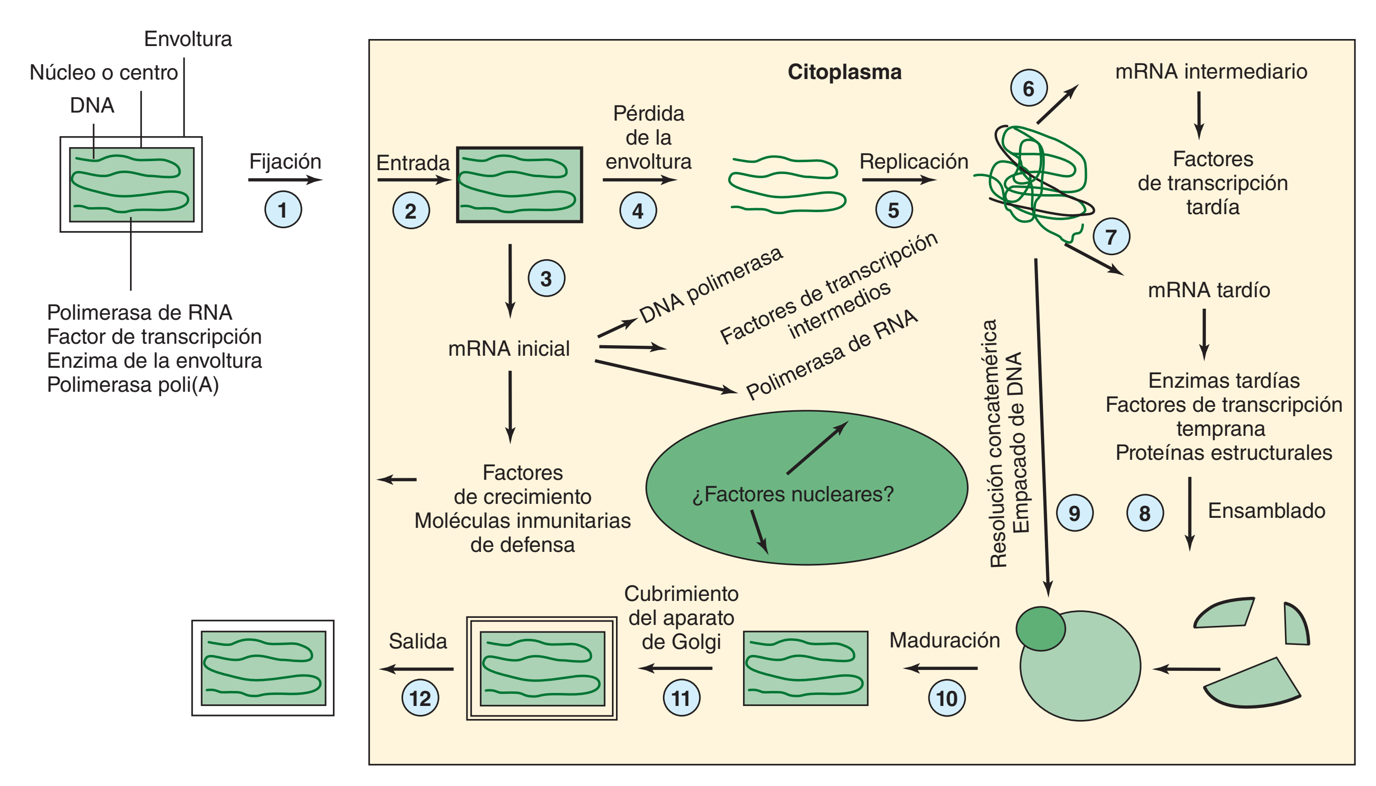


FIGURA 34-3 Esquema del ciclo de replicación del virus de vaccinia. (Con autorización de Moss B: Poxviridae: The virus and their replication. En: *Fields Virology*. Fields BN et al [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

acción de la proteína encargada de la pérdida de la envoltura. Los virus termoinactivados no pueden por sí solos iniciar la pérdida de la envoltura como segunda etapa, dada la termolabilidad de la polimerasa de RNA. Al parecer, el virus inactivado por calor aporta la estructura básica y el segundo virus suministra las enzimas necesarias para la transcripción. Cualquier poxivirus que afecte vertebrados se reactiva por acción de otras partículas del mismo tipo.

B. Replicación del DNA viral y síntesis de proteínas del virus

Entre las primeras proteínas sintetizadas después de infección por virus de vaccinia están las enzimas que intervienen en la replicación de DNA, que incluyen una polimerasa de dicho ácido nucleico y la timidina cinasa. La replicación del DNA viral se realiza en el citoplasma y al parecer depende de las enzimas codificadas propias del virus. La replicación de DNA del virus comienza poco después de que se libera dicho ácido nucleico en la segunda etapa de la pérdida de la envoltura. Acaece 2 a 6 h después de la infección en áreas definidas del citoplasma, que adquieren el aspecto de "fábricas" o cuerpos de inclusión en las micrografías electrónicas. El número de cuerpos de inclusión por célula es proporcional a la multiplicidad de la infección y ello sugiere que cada partícula infectante puede inducir la aparición de una "fábrica". En el interior de las células infectadas por poxvirus se produce recombinación homóloga en cantidades importantes; tal situación ha sido aprovechada en experimentos para la elaboración y para la expresión gráfica (cartografía) de mutaciones.

Las características de la expresión de genes virales cambian extraordinariamente cuando comienza la replicación del DNA viral. Se inhibe la síntesis de muchas de las proteínas iniciales. Se conoce una pequeña clase intermedia de genes cuya expresión antecede cronológicamente a la de los genes de la clase tardía (genes). El mRNA tardío del virus es "traducido" en grandes cantidades de proteínas estructurales y cantidades pequeñas de otras proteínas y enzimas del virus.

C. Maduración

El ensamblado de la partícula viral a partir de sus componentes elaborados constituye un proceso complejo. Algunas de las partículas son liberadas de la célula por el fenómeno de eclosión, pero la mayor parte de los poxvirus permanecen dentro de la célula hospedadora. En cada célula se producen unas 10 000 partículas virales. No se ha dilucidado la forma en que múltiples componentes del sistema de transcripción son incorporados en el núcleo central del virus en fase de ensamblado.

Un antiviral altera la morfogénesis de las partículas de poxvirus. La rifampicina bloquea la formación y el ensamblado de la recubierta del virus de enfermedad vacuna.

D. Genes modificadores del hospedador codificados por virus

Un polipéptido codificado por uno de los genes incipientes del virus de vaccinia guarda relación íntima con el factor de crecimiento epidérmico y con el factor α transformante de crecimiento. La generación de factores de crecimiento similares al factor de crecimiento epidérmico por parte de células infectadas por virus podría explicar la aparición de enfermedades proliferativas, producidas por miembros de la familia de poxvirus como el fibroma de Shope, el tumor de Yaba y los virus del molusco contagioso.

Algunos genes de poxvirus se asemejan a los de mamíferos en lo tocante a proteínas que podrían inhibir los mecanismos de defensa del hospedador. Entre los ejemplos están los receptores del factor de necrosis tumoral, interferón γ, IL-1 y proteína que se liga a complemento. Estos modificadores de defensa del hospedador codificados por poxvirus posiblemente se oponen a los sistemas de complemento y redes de citosina que son importantes en la respuesta inmunitaria del hospedador a la infección por virus, y ello permite intensificar la replicación de estas partículas y posiblemente facilitar su transmisión.

INFECCIONES POR POXVIRUS EN SERES HUMANOS: ENFERMEDAD VACUNA (VACCINIA) Y VARICELA

Control y erradicación de la viruela

Desde hace siglos se ha luchado contra la viruela por medio de la infección deliberada con formas benignas de la enfermedad; el proceso, denominado variolación, fue peligroso pero disminuyó los efectos desastrosos de las grandes epidemias, de modo que aminoró el índice de letalidad de 25 a 1%. En 1798 Edward Jenner introdujo la vacunación con virus vivos de viruela vacuna.

En 1967, la Organización Mundial de la Salud inició una campaña mundial para erradicar la viruela. Los signos epidemiológicos de la enfermedad (que serán descritos adelante), permitieron la erradicación total. Para esa fecha, en 33 países había viruela endémica y cada año surgían 10 a 15 millones de enfermos. El último caso de viruela en Asia se produjo en Bangladesh en 1975 y la última víctima natural se diagnosticó en Somalia en 1977. Se declaró oficialmente la eliminación de la viruela en 1980. Para lograr este hito extraordinario se identificaron tres factores principales: la vacuna se podía preparar fácilmente, era estable e inocua, y el personal de campo la podía aplicar de manera sencilla; por todo ello no era necesaria la vacunación masiva de la población a nivel mundial. Se identificaron los casos de viruela y se vacunó a los contactos del paciente y los que estaban en zonas inmediatas.

A pesar de que no hubo pruebas de transmisión de la viruela en todo el mundo, la Organización Mundial de la Salud coordinó la investigación de 173 posibles casos de viruela entre 1979 y 1984. Todos eran enfermedades distintas de la viruela, más a menudo varicela y otros trastornos que originan una erupción. Incluso en tal situación, cualquier caso sospechoso de viruela se transformaba en una emergencia sanitaria y debía ser investigado a brevísimo plazo por medio de evaluación clínica, obtención de muestras para estudio de laboratorio y diagnóstico preliminar con base en datos de laboratorio.

El hecho de contar con reservas virulentas del virus de viruela en laboratorios es un hecho preocupante ante el peligro de infecciones en esos centros y la propagación a la comunidad. Supuestamente en todos los laboratorios se destruyeron las reservas del virus de varicela, excepto en dos centros que colaboraban con la Organización Mundial de la Salud (uno en Atlanta y el otro en Moscú), dedicados al diagnóstico y la investigación de poxvirus vinculados con la varicela. Sin embargo, en el decenio de 1990 se supo que en la antigua Unión Soviética se había utilizado el virus de viruela en su programa de armas biológicas. No se supo el número de países que aún poseen el virus. Se considera que el virus de viruela constituye un agente potencialmente peligroso de bioterrorismo. Ante la erradicación mundial del virus de varicela

y la interrupción ulterior de los programas de vacunación, la población humana a nivel mundial tiene una inmunidad muy débil o inexistente contra la viruela y de este modo es muy susceptible a la infección con el virus de tal enfermedad.

Los científicos investigadores pueden obtener partes del genoma del virus de varicela si las solicitan a los centros de colaboración, pero no el genoma completo. La distribución, la síntesis y el manejo o modificaciones del DNA del virus de varicela son regidas por recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud.

Comparación de los virus de vaccinia y varicela

El virus de vaccinia o la enfermedad vacuna, el agente utilizado para la vacunación antivariolosa, es una especie particular de *Orthopoxvirus.* Los que señalan los mapas del genoma del virus mencionado obtenidos por medio de endonucleasa restrictiva son totalmente diferentes de las características del virus de la enfermedad vacuna, que según se pensaba, era su antecesor. En algún momento, después de que Jenner utilizó originalmente el término de virus de "enfermedad vacuna", el virus terminó por ser llamado "de vaccinia" y se desconoce la fecha y las razones de ese cambio. El virus en cuestión puede ser producto de recombinación genética, la aparición de una nueva especie derivada de los virus de vacuna o varicela por pasos seriados, o ser el descendiente de un género viral desaparecido. La varicela afecta pocos hospedadores (solamente humanos y monos), en tanto que la vaccinia puede afectar hospedadores de muy diversa índole que incluye a conejos y ratones. Algunas cepas del virus originan una enfermedad grave en conejos de laboratorio, al grado que se le ha llamado viruela de conejos. El virus en cuestión también infecta ganado vacuno y búfalos de río y la enfermedad en estos últimos ha persistido en la India (viruela de búfalos). Los virus de vaccinia y varicela proliferan en la membrana corioalantoidea de los embriones de pollo de 10 a 12 días, pero esta última origina pústulas más chicas. Ambos proliferan en algunas líneas celulares de pollo y primates.

Las secuencias de nucleótidos de los virus de varicela (186 kb) y de vaccinia (192 kb) son semejantes, y las diferencias más notables se advierten en las regiones terminales de los genomas.

De las 187 proteínas supuestas, hay enorme similitud en la secuencia de 150 de ellas, entre uno y otro virus; las 37 restantes fueron diferentes o tuvieron especificidad para la varicela y pudieran constituir posibles determinantes de virulencia. Las secuencias no permiten conocer el origen del virus de la varicela ni explicar su especificidad estricta en cuanto al hospedador humano o su virulencia particular.

Patogenia y aspectos patológicos de la viruela

La viruela ha sido una enfermedad ya erradicada, pero la patogenia del trastorno (que, como es lógico, ocurría originalmente) puede orientar en el caso de infecciones de otros poxvirus. La patogenia de la viruela murina se ilustra en la figura 30-3.

El punto de penetración del virus de varicela son las mucosas de las zonas superiores de las vías respiratorias. Una vez que penetra el virus, según expertos, acaecen los pasos siguientes: 1) multiplicación primaria en el tejido linfoide que recibe linfa del sitio de penetración; 2) viremia transitoria e infección de células reticuloendoteliales de todo el cuerpo; 3) una fase secundaria de multiplicación de tales células que origina; 4) una viremia secundaria más intensa, y 5) aparición de la enfermedad clínica.

En la fase anterior a la erupción, la enfermedad casi no es infectante. Entre el sexto y el noveno días, las lesiones de la boca tienden a ulcerarse y expulsar virus. De este modo, en la etapa inicial los virus infectantes provienen de lesiones en la boca y zona superior de vías respiratorias. Más tarde, se rompen las pústulas y de ellas salen virus al entorno de la persona con viruela.

El análisis histopatológico de la piel indica proliferación de la capa de células espinosas y estas últimas en proliferación contienen muchas inclusiones citoplásmicas. Se advierte infiltración a base de mononucleares, en particular alrededor de los vasos del corion. Los queratinocitos de la capa de Malpigio muestran turgencia, por la distensión de su citoplasma y en ellos se observa la "degeneración" globosa. Se agrandan las vacuolas en el citoplasma. Se disgrega la membrana celular y coalesce con células vecinas afectadas de manera similar, y de ello surgen vesículas. Estas últimas se agrandan, para después llenarse de leucocitos y restos celulares. El cuadro anterior puede abarcar todas las capas de la piel y se observa necrosis real de la dermis. Por todo lo comentado quedan cicatrices después de la infección por varicela. En el caso de la enfermedad vacuna se observa un cuadro histopatológico similar, aunque el virus patógeno suele originar lesiones pustulosas localizadas sólo en el sitio de inoculación.

Manifestaciones clínicas

El periodo de incubación de la varicela era de 10 a 14 días y comenzaba en forma repentina. Antes de que apareciera el exantema, la persona mostraba fiebre y malestar general durante uno o cinco días, para después surgir máculas, pápulas, vesículas y finalmente pústulas. Estas últimas formaban costras que se desprendían después de unas dos semanas y quedaban cicatrices rosas que desaparecían lentamente. En cada área afectada por lo común las lesiones estaban en la misma fase de evolución (a diferencia de la varicela).

En la "Tarjeta de identificación de la viruela" preparada por la Organización Mundial de la Salud se observa el exantema típico (fig. 34-4). Las lesiones abundan más bien en la cara y en menor grado en el tronco. En casos graves, el exantema es hemorrágico. La cifra de letalidad varió de 5 a 40%. En la variante poco intensa, llamada alastrim, o en personas vacunadas, el índice de mortalidad es menor de 1%.

Inmunidad

Los virus del género *Orthopoxvirus* tienen una semejanza antigénica tan grande que es imposible diferenciarlos por medios serológicos. La infección con uno induce una respuesta inmunitaria y reacciones con todos los demás miembros del grupo.

El ataque de viruela brinda protección completa contra una nueva infección. La aplicación de la vacuna a base del virus de vaccinia ha inducido inmunidad contra el virus de varicela por cinco años, como mínimo, y a veces por más tiempo. Los anticuerpos solos no bastan para lograr la recuperación de una infección primaria por poxvirus. En el humano hospedador aparecen anticuerpos neutralizantes unos cuantos días después de comenzar el cuadro de viruela, pero no impiden la evolución de las lesiones y la persona puede fallecer en la etapa pustulosa y tener elevados niveles de anticuerpos. Es probable que la inmunidad mediada por células sea más importante que la presencia de anticuerpos circulantes. Las personas con hipogammaglobulinemia suelen reaccionar de



FIGURA 34-4 Erupción variolosa. La "Tarjeta de identificación de viruela" de la Organización Mundial de la Salud ilustra la distribución y naturaleza de la típica erupción de la viruela en un niño no vacunado. (Por cortesía de F Fenner y la Organización Mundial de la Salud.)

manera normal a la vacunación y terminan por poseer inmunidad, a pesar de la ausencia manifiesta de anticuerpos. Los individuos que muestran deficiencia en sus respuestas inmunitarias celular y humoral (anticuerpos) terminan por mostrar una enfermedad progresiva que culmina en la muerte, después de la vacunación.

Otro mecanismo inmunitario posible es la síntesis de interferón (cap. 30). Los animales radiados sin anticuerpos detectables ni hipersensibilidad tardía se recuperaron de la infección por virus de vaccinia con la misma rapidez que los animales testigos no tratados.

Diagnóstico de laboratorio

Se cuenta con algunos métodos para confirmar el diagnóstico de viruela. Es posible que en la actualidad la enfermedad esté totalmente erradicada, pero es importante identificar cualquier caso que se le asemeje. Los estudios dependen de la identificación del DNA viral o del antígeno, del material de la lesión, del estudio microscópico directo del material obtenido de lesiones de la piel, la identificación del virus en el paciente y de menor importancia, la demostración de anticuerpos en la sangre.

A. Aislamiento e identificación de los virus

Las lesiones de la piel son el material más indicado para detectar y aislar los virus. Los poxvirus son estables y permanecerán viables durante semanas en muestras incluso no refrigeradas.

Se recurre al estudio directo del material clínico con microscopio electrónico para la identificación rápida de las partículas virales (en 1 h aproximadamente), y de este modo se puede diferenciar de manera fácil la infección por poxvirus de otra causada por el virus de varicela (esta otra es causada por un virus herpético). Es imposible diferenciar un ortopoxvirus de otro por medio de la microscopia electrónica, porque su tamaño y su morfología son similares. Sin embargo, es fácil diferenciarlos de los tanapoxvirus y de los parapoxvirus.

Se cuenta con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*), específica para varios poxvirus, y se la utiliza para su detección e identificación. El antígeno viral se detecta por inmunohistoquímica en los tejidos y del material reunido de lesiones cutáneas. Muchos antígenos muestran reactividad cruzada e identifican a los ortopoxvirus, en forma grupal. El empleo de PCR o desdoblamiento o separación del DNA viral por enzimas restrictivas o el análisis de polipéptidos en células infectadas en poxvirus demuestran que los virus de varicela, vaccinia, viruela símica y vacuna poseen características propias. Es importante identificar trastornos similares a la viruela para tener la certeza de que se ha erradicado la viruela y de que no ha reaparecido.

El aislamiento del virus se realiza por inoculación del líquido vesicular en la membrana corioalantoidea de embriones de pollo. La prueba anterior permite fácilmente diferenciar casos de viruela de los de vaccinia generalizada, dado que las lesiones producidas por dichos virus en la membrana muestran diferencias extraordinarias. En cuestión de dos a tres días, las pústulas de vaccinia son grandes y tienen centros necróticos, en tanto en las de varicela son mucho menores. Las viruelas vacuna y símica originan lesiones hemorrágicas características. Los parapoxvirus, el virus de molusco contagioso y el tanapoxvirus no proliferan en la membrana.

También se han utilizado cultivos celulares para aislar el virus. Los más susceptibles son las células de humanos y de prima-

tes no humanos. Los ortopoxvirus proliferan satisfactoriamente en células cultivadas; los parapoxvirus y los tanapoxvirus tienen una proliferación menos adecuada y es imposible identificar en cultivo el virus del molusco contagioso.

B. Estudios serológicos

Se necesita aislar el virus para la identificación rápida y precisa en el caso de infecciones por poxvirus. Sin embargo, cabe recurrir a cuantificaciones de anticuerpos para confirmar el diagnóstico. Estos últimos aparecen después de la primera semana de infección y pueden ser detectados por métodos como inhibición de la hemaglutinación (HI, *hemagglutination inhibition*), pruebas de neutralización, enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assay*), radioinmunoanálisis (RIA, *radioimmunoassay*) o técnicas de inmunofluorescencia. Con los métodos anteriores no se podrá diferenciar un ortopoxvirus de otro.

Tratamiento

El concentrado inmunoglobulínico antivarioloso se prepara de sangre obtenida de personas que han sido vacunadas con el virus de la enfermedad vacuna (vaccinia). Se recomienda su uso para tratar todas las complicaciones, salvo la encefalitis posvaccinia. En 2003 eran muy escasas las reservas del concentrado inmunoglobulínico de vaccinia, y se le podía obtener sólo de los Centros para Control y Prevención de Enfermedades en Estados Unidos.

La metisazona es un agente quimioterapéutico que posee moderada utilidad contra los poxvirus. Es eficaz como preventivo, pero no es útil para tratar la enfermedad declarada. El cidofovir, análogo nucleótido, posee actividad contra los poxvirus *in vitro* e *in vivo*.

Los estudios en monos han señalado que el tratamiento con antivirales es más eficaz que la vacunación antivariolosa después de la exposición, para disminuir el índice de mortalidad por infección viral letal.

Epidemiología

La transmisión de la infección de la viruela se produce por contacto entre un enfermo y el siguiente. La viruela es un trastorno fuertemente contagioso. El virus era estable en el entorno extracelular, pero era transmitido más a menudo por las vías respiratorias. El virus seco en las costras de lesiones cutáneas puede sobrevivir en las ropas y otros materiales y ocasionar infecciones.

Los pacientes mostraban gran infecciosidad durante la primera semana de la erupción, una vez que había comenzado la fiebre. Las gotitas de secreciones respiratorias se tornaban infectantes en fecha más temprana que las lesiones cutáneas.

Las características epidemiológicas mostradas a continuación permitieron la erradicación total de la viruela: nunca hubo un reservorio extrahumano conocido; había un solo serotipo estable; se contó con una vacuna eficaz; no surgieron infecciones subclínicas; tampoco se identificó el estado de portador asintomático crónico del virus. La partícula viral en el entorno del paciente provino de lesiones en la boca y la faringe (y más tarde en la piel), razón por la cual los individuos con una infección lo suficiente intensa para transmitir la enfermedad muy posiblemente estuvieron tan graves que llamaron la atención de las autoridades médicas. El contacto íntimo necesario para la propagación eficaz de la enfermedad permitió la identificación fácil de los contactos del enfermo, de tal forma que fue posible emprender medidas de lucha específica para interrumpir el ciclo de transmisión.

La Organización Mundial de la Salud logró erradicar la viruela por medio de un programa de vigilancia-contención. Se identificó el origen de cada brote y se detectaron y vacunaron todos los contactos susceptibles.

Vacunación con vacuna preparada a partir de vaccinia

El virus de la enfermedad vacuna (vaccinia) usado para vacunación se prepara de las lesiones vesiculares ("linfa"), producidas en la piel de terneras o se obtiene por proliferación en embriones de pollo. El preparado final contiene 40% de glicerol para estabilizar el virus y 0.4% de fenol para destruir bacterias.

Las normas de la Organización Mundial de la Salud exigen que las vacunas antivariolosas tengan una potencia no menor de 10^8 unidades formadoras de pústulas por mililitro. Está en fase de estudio una nueva vacuna obtenida por cultivo celular. La vacuna hecha a base de vaccinia no contiene el virus de la viruela.

Los buenos resultados de la erradicación de la viruela tuvieron como consecuencia la vacunación sistemática, que ya no se recomienda. En 1971 en Estados Unidos se interrumpió la vacunación antivariolosa sistemática en niños; por esa razón, todos los pequeños que nacieron a partir de 1972, son susceptibles de presentar la infección.

El virus de vaccinia fue utilizado en investigaciones y ha ocasionado infecciones adquiridas en el laboratorio. Las recomendaciones actuales indican que se debe vacunar a todo el personal de laboratorio que manipula cultivos o animales infectados con virus de vaccinia u otros ortopoxvirus que infectan humanos. La preocupación reciente sobre la posibilidad de un ataque terrorista con virus de viruela ha generado recomendaciones para utilizar la vacuna antivariolosa (con virus de viruela), en escala ilimitada (p. ej., comenzar con el personal asistencial).

A continuación también se presenta el resumen de las vacunaciones porque está en estudio el virus de vaccinia para ser usado como vector e introducir en él genes alógenos para inmunización y como viroterapia oncolítica contra el cáncer.

A. Calendario de vacunación

Las complicaciones de la vacunación (véase adelante) surgen más a menudo en niños menores de un año de edad. Por esta razón es preferible vacunarlos entre el primero y el segundo años de vida, que hacerlo antes de los 12 meses. La repetición de la vacunación se hace a intervalos de tres años.

B. Reacciones e interpretaciones

1. "Prendimiento" primario. En la persona totalmente susceptible, en el tercero o el cuarto día surge una pápula rodeada de hiperemia. El tamaño de la pápula aumenta hasta que surge una vesícula (en el quinto o sexto día); esta última alcanza su diámetro máximo hacia el noveno día y se transforma en pústula. La siguiente fase es la de secado, que se completa en unas dos semanas y queda una cicatriz hundida de color rosa que al final se torna blanca. La lectura del resultado por lo común se practica en el séptimo día. Se considera que se logra protección total, después que la persona presenta una respuesta vesiculosa o pustulosa, alrededor de la lesión central (costra o úlcera). De no aparecer tal reacción, habrá que repetir la vacunación.

2. Repetición de la vacunación. La repetición de la vacunación logró su cometido cuando surge en 6 a 8 días una

lesión vesiculosa o pustulosa o una zona de induración palpable alrededor de la lesión central, que puede ser una costra o una úlcera. La reacción anterior es la única que denota con certeza que ha habido multiplicación viral. Las reacciones equívocas pueden equivaler a inmunidad, pero a veces representan simples reacciones alérgicas a una vacuna que perdió su actividad (inactivada). Al surgir una reacción de ese tipo habrá que repetir la vacunación, con un nuevo lote.

C. Reacciones adversas a la vacunación

La vacunación antivariolosa conlleva un riesgo mesurable definido. En Estados Unidos, el riesgo de muerte por todas las complicaciones era de un caso por millón entre quienes recibían la vacuna primaria y de 0.6 casos por millón si se repetía la vacunación. En niños menores de 12 meses de vida el riesgo de muerte era de cinco casos por millón en la vacunación primaria. Surgían graves complicaciones de la vacunación, en situaciones como inmunodeficiencia, inmunodepresión, cánceres y embarazos, factores que constituyen contraindicaciones para aplicar la vacuna de la vaccinia, así como también eccema, alergia a algún componente de la vacuna y vivir en un núcleo familiar en que alguna persona tiene una contraindicación para ser vacunada.

1. Autoinoculación inadvertida. La situación mencionada surge cuando se infecta una zona del cuerpo, alejada del punto de inoculación, por rascado o por fómites como el caso de las ropas; constituye la complicación más común y se observa con una frecuencia de 25 casos por millón. La vaccinia ocular constituía el problema más frecuente y a veces originaba defectos visuales residuales. Los sitios extraoculares más frecuentes eran la cara, las vías nasales, la boca, los labios y los genitales.

2. Transmisión por contacto. La transmisión del virus de vaccinia por la vía comentada se produce cuando la partícula es transferida de un vacunado a una persona en contacto muy cercano. Puede haber dispersión del virus hasta que cicatriza la costra. El virus puede permanecer activo varios días en las ropas personales y de cama y otros objetos inanimados (fómites). La infección adquirida por el contacto puede ocasionar las mismas reacciones adversas que la reacción por vacunación.

3. Eccema vacunal. Es un síndrome eruptivo localizado o generalizado que puede surgir en cualquier sitio del cuerpo. Los sujetos con dermatitis atópica (eccema) están expuestos al máximo riesgo y el trastorno es más intenso en niños de corta edad (fig. 34-5). El eccema mencionado puede aparecer de manera simultánea a la lesión vacunal local en personas vacunadas e incluso hacerlo tres semanas después de la exposición en personas en contacto muy cercano de la que recibió la vacuna. El trastorno conlleva una mortalidad elevada. Se puede obtener beneficio de la aplicación del concentrado inmunoglobulínico de vaccinia.

4. Enfermedad vacuna generalizada. Se manifiesta por brotes de lesiones vacunales en cualquier zona del cuerpo, que aparecen cuatro días o más después de la vacunación (frecuencia de 23 casos por millón). Según se sabe, las lesiones cutáneas diseminan el virus por vía hematógena. La vaccinia generalizada por lo común es autolimitada en hospedadores inmunocompetentes, pero suele ser más grave en individuos inmunodeficientes.

5. Vaccinia progresiva. Constituye una complicación rara y grave, cuando no cicatriza el sitio de la vacunación y persiste la replicación del virus de vaccinia. Aparece en personas que tienen una deficiencia básica en la inmunidad humoral o celular, y suele ser mortal. La incidencia del trastorno en Estados Unidos es de un caso por millón. Entre las contraindicaciones para la vacunación están la inmunodeficiencia y la inmunodepresión.

6. Vaccinia fetal. En contadas ocasiones la mujer a quien se aplica vacuna en cualquier fecha del embarazo puede transmitir el virus al feto y al final origina su óbito. Por esta razón será mejor no aplicar la vacuna a una embarazada.

7. Enfermedad posvacunal del sistema nervioso central. Constituye una reacción grave y rara, que comprende la inflamación del parénquima del sistema nervioso central después de vacunación antivariolosa, y un ejemplo sería la encefalitis posvaccinia. Es grande el índice de mortalidad de dicha complicación grave. La incidencia en Estados Unidos era de unos tres casos por millón, entre quienes recibían por primera vez la vacuna, en cualquier edad. Es más frecuente en niños menores de un año de vida. El cuadro comienza unos 12 días después de la vacunación. No se ha identificado su causa.

INFECCIONES POR VIRUELA DE LOS SIMIOS

El virus de viruela símica es una especie de *Orthopoxvirus*. La enfermedad se identificó por primera vez en monos en cautiverio, en 1958. Antes de 1970 se descubrieron infecciones en humanos por dicho virus en África Occidental y Central después de la erradicación de la viruela en esas regiones.

La enfermedad es una zoonosis rara, detectada en aldeas remotas de bosques lluviosos tropicales, en particular en países de la cuenca del Congo en África y posiblemente en África Occidental. Tal vez se contagia por contacto directo con animales salvajes, sacrificados para obtener su carne como alimento, y su piel. No se ha identificado el reservorio hospedador primario, pero puede haber infección de ardillas y roedores.

El cuadro clínico de la viruela símica en humanos se ha definido con base en el estudio de 282 enfermos infectados en Zaire de 1980 a 1985. Incluía personas de todas las edades, pero la mayoría (90%) tenía menos de 15 años de vida. Los síntomas clínicos fueron similares a las formas corriente y modificada de la viruela. En algunos pacientes la erupción apareció en brotes, lo cual planteó un problema diagnóstico para diferenciarla de la varicela. En muchos enfermos hubo linfadenopatía notable, signo que no se observa en la viruela ni en la varicela.

Las complicaciones fueron frecuentes y graves; por lo común abarcan un cuadro disneico de pulmones (disfunción) e infecciones bacterianas secundarias. En sujetos no vacunados el índice de letalidad fue de 11%, en promedio. La aplicación de la vacuna hecha de virus de vaccinia protege de la viruela símica o aminora su intensidad.

Suele pensarse que la infección de viruela símica en humanos no se transmite fácilmente de una persona a otra. Los cálculos previos indicaban que sólo aproximadamente 15% de los contactos familiares susceptibles se contagiaban de la viruela símica de los pacientes. Sin embargo, los datos de un brote en Zaire en 1996 y 1997 sugirieron una mayor posibilidad de transmisión de una persona a otra.



FIGURA 34-5 Eccema vacunal en un niño eccematoso de corta edad. La enfermedad surgió después de la exposición a un miembro de la familia recién vacunado. (Por cortesía de AE Kaye; Centers for Disease Control and Prevention Public Health Image Library.)

El primer brote de viruela símica en el hemisferio occidental se produjo en Estados Unidos en 2003. Se diagnosticaron más de 80 casos en humanos (no hubo fallecimientos), más bien en estados del Medio Oeste. El punto de partida fue una tienda de mascotas exóticas en la que al parecer una rata africana importada propagó el virus a perrillos de la pradera y de ellos a los humanos. Es posible que el virus de viruela símica aislada constituyera un virus atenuado naturalmente proveniente de África Occidental, menos patógeno para los humanos que los virus aislados en África Central.

INFECCIONES POR ENFERMEDAD VACUNA

El virus de la enfermedad vacuna es otra especie de ortopoxvirus. La enfermedad afecta ganado vacuno, tiene menor intensidad que los cuadros variólicos de otros animales, y las lesiones se circunscriben a las tetas y las ubres (fig. 34-6A). La infección de los humanos se produce por contacto directo durante la ordeña, y la lesión en ordeñadores se circunscribe a las manos (fig. 34-6D). El ataque es más intenso en personas no vacunadas que en quienes han recibido el virus de vaccinia (variolovacuna).

El virus de la viruela vacuna es semejante inmunológicamente y en la identidad de sus huéspedes al de la vaccinia; también tiene una semejanza inmunológica íntima con el virus de la varicela. Jenner fue uno de los primeros en observar que las personas que tenían las viruelas vacunas eran inmunes a la viruela. Es posible diferenciar el virus de la viruela vacuna del de la vaccinia por las lesiones profundas hemorrágicas rojizas que origina el primero en la membrana corioalantoidea del embrión de pollo.

El reservorio natural del virus de enfermedad vacuna al parecer es un roedor, y el ganado vacuno y los humanos son solamente hospedadores accidentales. Los gatos domésticos también son susceptibles al virus de la enfermedad vacuna. En el Reino Unido se han notificado más de 50 casos en felinos, pero se piensa que es poco común la transmisión de los gatos a los humanos. La viruela vacuna dejó de ser enzoótica en ganado vacuno, aunque en ocasiones surgen casos de ataque de tal ganado y de humanos vinculados con ellos. La viruela felina es esporádica y probablemente se transmita a partir de algún pequeño roedor salvaje, como serían los ratones silvestres. A veces hay ataque de humanos (en que surgen lesiones cutáneas hemorrágicas, fiebre y malestar general), sin que se hubiera producido algún contacto con animales y tal vez no se le diagnostique. No se cuenta con tratamiento alguno.

INFECCIONES POR VIRUELA DE BÚFALOS

El virus de la viruela de búfalos es un derivado del virus de variolovacuna (vaccinia) que ha persistido en la India en el búfalo de río, porque se interrumpió la vacunación antivariolosa. La enfermedad de los búfalos (y a veces de ganado vacuno), es idéntica a la viruela vacuna. La infección de búfalos puede transmitirse a los seres humanos y aparecen lesiones vacunales localizadas. También existe alguna preocupación de que pueda surgir una transmisión de un humano a otro.

INFECCIONES POR VIRUS DE ECTIMA CONTAGIOSO

El virus de la enfermedad comentada es una especie de parapoxvirus. Afecta a ovejas y cabras y tiene una prevalencia mundial (fig. 34-6C). La enfermedad también ha sido denominada dermatitis pustulosa contagiosa o ectima. El ectima contagioso se transmite a las personas por contacto directo con un animal infectado. Es una enfermedad ocupacional de trabajadores que manipulan ovejas y cabras. Señalamientos recientes en Estados Unidos destacan el vínculo temporal entre las lesiones de seres humanos y la vacunación reciente de manadas con virus vivo de la enfermedad. La infección por dicho virus se facilita por el traumatismo de la piel. El ataque de los seres humanos suele aparecer después de una lesión aislada de un dedo, la mano o el antebrazo (fig. 34-6F), pero puede surgir en la cara o el cuello.



FIGURA 34-6 Animales y humanos con viruela vacuna, paravacuna y ectima contagioso. **A:** Úlcera de la viruela vacuna en la teta de una vaca, siete días después de comenzar los signos. **B:** El alastrim (virus de nódulo de ordeñador) en la teta de la vaca. **C:** Boca "encostrada" de una oveja causada por el virus de ectima contagioso. **D, E, F:** Lesiones en las manos causadas por los virus anteriores. **D:** Viruela vacuna. **E:** Nódulo de ordeñador (paravacuna). **F:** Ectima contagioso. (**A** y **B** por cortesía de EPJ Gibbs; **C** por cortesía de A Robinson; **D** por cortesía de AD McNae; **E** y **F** por cortesía de J Nagington.)

Las lesiones incluyen grandes nódulos muy dolorosos y la piel vecina está inflamada. La infección rara vez se generaliza. Para la curación se necesita el transcurso de varias semanas.

Por microscopia electrónica se confirma la presencia de la infección por parapoxvirus, pero solamente por medio de la reacción en cadena de la polimerasa se puede identificar de manera definitiva un parapoxvirus como el agente del ectima contagioso.

MOLUSCO CONTAGIOSO

El molusco contagioso es un tumor benigno de la epidermis que ataca solamente a personas (a pesar de que hay datos de un virus muy semejante en los caballos). El agente causal se ha clasificado como el único miembro del género *Molluscipoxvirus*.

No se ha logrado transmitir el virus a animales, ni ha proliferado en cultivo hístico. Se ha usado la microscopia electrónica para estudiarlo en lesiones de humanos. El virus purificado tiene forma oval o rectangular y mide aproximadamente 230 nm × 330 nm; se asemeja al de la variolovacuna (vaccinia). Los anticuerpos contra el virus no muestran reacción cruzada con los demás poxvirus.

El DNA viral se asemeja al del virus de la vaccinia en lo que toca a los enlaces cruzados terminales y las repeticiones terminales invertidas. Su contenido global de G + C es en promedio de 60%. Se ha identificado la secuencia de todo el genoma del virus de molusco contagioso (≈190 kbp); contiene como mínimo 163 genes, y en promedio las dos terceras partes de ellos se asemejan a los de los genes de virus de viruela y enfermedad vacuna. El gran número de genes diferentes seguramente explican la diversidad de enfermedades en seres humanos producida por los virus de molusco contagioso y de viruela.

Las lesiones en esta enfermedad son tumores pequeños, de color rosa, verrugosos, en la cara, los brazos, el dorso y los glúteos (fig. 34-7) y rara vez se identifican en las palmas y en las plantas o en las membranas mucosas. La enfermedad aparece en todo el mundo en sus formas esporádica y epidémica y es más frecuente en niños que en adultos. Se propaga por contacto directo e indirecto (como el caso de los barberos, uso común de toallas, nadar en piscinas).

Va en aumento la incidencia de molusco contagioso como enfermedad de transmisión sexual en adultos jóvenes. También ha afectado a algunos individuos con sida. La piel en la etapa terminal de esta última enfermedad puede estar cubierta de innumerables pápulas. La lesión típica es una pápula umbilicada, pero las que aparecen en zonas húmedas de genitales pueden mostrar inflamación o ulceración y ser confundidas con las causadas por el virus del herpes simple (HSV, *herpes simplex virus*). Las muestras de tales lesiones suelen ser enviadas a laboratorios de virología diagnóstica para aislamiento de HSV (véase adelante).

El periodo de incubación puede abarcar seis meses. Las lesiones a veces son pruríticas y ello ocasiona autoinoculación. Ellas pueden persistir incluso dos años, pero al final muestran regresión espontánea. El virus es un inmunógeno débil; 33% de los enfermos nunca generan anticuerpos contra él y son frecuentes los segundos ataques.

No se ha podido propagar en forma seriada el virus del molusco contagioso en cultivo celular, pero infectan células de primates humanos y no humanos y pasan por una fase de infección abortada. El virus pierde su envoltura y quedan los núcleos centrales y a ello sigue el efecto citopático transitorio característico. Los cambios celulares pueden ser considerados erróneamente como los generados por HSV; por esta razón, hay que identificar con todo detalle las partículas de muestras de las que se sospecha contienen HSV. En un estudio realizado en 1985 de 137 muestras cultivadas para identificar HSV con el empleo de fibroblastos humanos, 49 contuvieron dicho virus; otras seis generaron efectos citopáticos pero no contuvieron antígenos de tal partícula viral. Por medio de la microscopia electrónica se confirmó la presencia del virus de molusco contagioso en muestras HSV-negativas con positividad del efecto citopático.

Por lo regular el diagnóstico de molusco contagioso se puede hacer sobre bases clínicas. Sin embargo, el personal exprime un material caseoso semisólido de las lesiones que se usa para el diagnóstico con técnicas de laboratorio. Por medio de la reacción en cadena de la polimerasa se detectan las secuencias de DNA del virus y con la microscopia electrónica las partículas de poxvirus.

FIGURA 34-7 Lesiones del molusco contagioso en seres humanos. (Por cortesía de D Lowy.)

A


B


FIGURA 34-8 Lesiones producidas por el virus de la viruela tana. **A:** Diez días después de que apareció por primera vez la lesión. **B:** Treinta días después de la aparición de la lesión. (Por cortesía de Z Jezek.)

TUMORES SÍMICOS POR VIRUS TANAPOX Y YABA E INFECCIONES POR POXVIRUS

La viruela tana (tanapox) es una infección cutánea bastante frecuente en algunas zonas de África, en particular en Kenia y la República Democrática del Congo. Su hospedador natural probablemente sea el mono, aunque es factible que exista otro reservorio y que dichos animales sean sólo hospedadores fortuitos. Se desconoce el mecanismo de transmisión.

Los virus tumorales de monos tana y yaba muestran similitud serológica entre sí, pero son diferentes de otros poxvirus. Se les clasifica dentro del género *Yatapoxvirus*. Guardan semejanza morfológica con los ortopoxvirus. El genoma del virus tana tiene 160 kbp, en tanto que el poxvirus del tumor símico yaba es menor (145 kbp; 32.5%, G + C). Los virus proliferan únicamente en cultivos de células símicas y de seres humanos, y ejercen efectos citopáticos. No proliferan en la membrana corioalantoidea de huevos embrionados.

La viruela tana comienza con un periodo febril de tres a cuatro días y abarca síntomas como cefalea y postración intensas. Por lo común surgen una o dos lesiones en la piel y nunca aparecen pústulas (fig. 34-8). La curación necesita a veces del transcurso de cuatro a siete semanas.

El poxvirus tumoral símico yaba origina histiocitomas benignos cinco a 20 días después de la administración subcutánea o intramuscular en monos. Los tumores muestran regresión después de unas cinco semanas. La administración endovenosa del virus hace que aparezcan múltiples histiocitomas en los pulmones, el corazón y los músculos de fibra estriada. No aparecen cambios neoplásicos verdaderos. El virus se aísla fácilmente del tejido tumoral y en células neoplásicas se identifican las inclusiones características. Los monos de diversas especies y los seres humanos son susceptibles a los efectos de proliferación celular del virus, pero no son susceptibles otros animales de laboratorio. Los manipuladores de animales pueden mostrar la infección, pero no se han observado en forma natural en África infecciones de seres humanos.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un trabajador de 40 años, de los servicios de emergencia, considera la posibilidad de recibir una vacuna antivariolosa por las posibilidades de un acto de bioterrorismo. Investiga lo referente a la vacuna y advierte que la reacción adversa más frecuente o la complicación después de la aplicación de tal producto (vacuna variolovacuna o vaccinia) es
   (A) Enfermedad variolovacuna generalizada (vaccinia)
   (B) Eccema vacunal
   (C) Enfermedad variolovacuna (vaccinia) progresiva
   (D) Reacción alérgica intensa
   (E) Autoinoculación inadvertida
2. El trabajador de la pregunta anterior también se entera de las contraindicaciones para la vacunación antivariolosa. De las situaciones siguientes, ¿cuál no constituye una contraindicación para utilizar la vacuna antivariolosa, en una situación corriente que no constituya una emergencia?
   (A) Inmunosupresión
   (B) Alergia intensa a algún componente de la vacuna
   (C) Contacto dentro del núcleo hogareño con una persona que tiene eccema
   (D) Embarazo
   (E) Vacunaciones antivariolosas previas
3. De los poxvirus siguientes, ¿cuál o cuáles infectan únicamente seres humanos?
   (A) Viruela símica
   (B) Molusco contagioso
   (C) Viruela tana
   (D) Viruela vacuna
   (E) Virus tumoral yaba
4. Un niño de siete años tiene lesiones similares a viruela en su mano y brazo izquierdos. Adquirió un roedor como mascota, importado de África Occidental. En él y en su mascota se diagnostica viruela símica. De las afirmaciones siguientes, ¿cuál es la más precisa respecto al virus de la viruela símica?
   (A) El cuadro clínico en seres humanos se asemeja a la viruela
   (B) Las infecciones en seres humanos nunca son letales
   (C) No se obtiene protección con la vacunación antivariolosa
   (D) Las infecciones se transmiten fácilmente de un miembro de la familia a otro
   (E) Por medio de microscopia electrónica se pueden diferenciar las partículas virales de las del virus de la viruela
5. De las afirmaciones siguientes, ¿cuáles son las que mejor describen el estado de la vacuna antivariolosa (viruela) aprobada?
   (A) Se elabora con un virus vivo atenuado de viruela
   (B) Virus inactivado de viruela
   (C) Virus vivo de enfermedad variolovacuna (vaccinia)
   (D) Virus de vaccinia inactivado
   (E) Vacuna obtenida por bioingeniería que contiene virus de vaccinia y de viruela
6. De las afirmaciones siguientes, ¿cuáles no son válidas para la replicación del virus de vaccinia en células cultivadas?
   (A) El ciclo de replicación viral ocurre en el citoplasma de células infectadas
   (B) La fase de pérdida de recubrimiento hace que se libere el genoma viral y necesita una proteína viral recién sintetizada
   (C) Dentro de los núcleos virales se produce la transcripción temprana de más de los 50 genes virales y es un paso previo a la replicación del DNA viral
   (D) Las partículas virales recién formadas maduran por eclosión y gemación a través de la membrana nuclear
7. Una enfermera de 37 años que labora en la sala de urgencias recibe la vacuna antivariolosa por la amenaza de bioterrorismo. Doce días más tarde tiene una complicación grave por la vacuna. Se considera con fin terapéutico el concentrado inmunoglobulínico de vaccinia. De las situaciones siguientes, ¿en cuáles no brinda beneficio la aplicación de la inmunoglobulina mencionada?
   (A) Vaccinia generalizada intensa
   (B) Vaccinia progresiva
   (C) Encefalitis posvacunal
   (D) Eccema vacunal
   (E) Vaccinia ocular
8. Otra enfermera de la misma sala de urgencias que la de la paciente de la pregunta anterior recibe vacuna antivariolosa. ¿En qué punto se considera que está totalmente protegida de la viruela?
   (A) Diez días después de la primera dosis de vacuna, independientemente de la respuesta en el sitio de aplicación
   (B) Diez días después de la segunda dosis de vacuna, sea cual sea la respuesta en el sitio de aplicación
   (C) Después de la aparición de cualquier reacción en el sitio de aparición
   (D) Después de que aparecen lesiones vesiculosa o pustulosa en el sitio de aplicación
   (E) Después de la aparición de erupción generalizada en la persona vacunada

9. De los factores que se presentan, ¿cuál no cumple con los criterios de exposición a la vaccinia?
   (A) Vacunación antivariolosa
   (B) Contacto muy cercano con una persona que en fecha reciente recibió vacuna antivariolosa
   (C) Exposición intrauterina
   (D) Inyección de concentrado inmunoglobulínico de vaccinia
10. Un investigador intenta obtener el genoma completo del virus de varicela, para estudios de vacunación. De las instituciones siguientes, ¿cuál es la más adecuada para obtener DNA viral?
   (A) Los Centros para Control y Prevención de Enfermedades
   (B) Algún centro que colabora con la Organización Mundial de la Salud
   (C) The American Type Culture Collection
   (D) Un colega con un clon del virus de varicela
   (E) Está prohibida la distribución del genoma viral en toda su longitud
11. Los científicos de laboratorio que trabajan con cultivos o animales infectados por el virus de vaccinia están en peligro de exposición accidental a muchos virus. De los procedimientos siguientes, ¿cuál es el que menor beneficio brinda a un trabajador de laboratorio para protegerlo de la infección inadvertida con virus de vaccinia?
   (A) Empleo apropiado del equipo protector personal, como guantes y anteojos
   (B) Limpieza del espacio de trabajo de laboratorio antes de la experimentación
   (C) Vacunación antivariolosa
   (D) Prácticas en que se manipulan en forma segura agujas
   (E) Empleo de caperuzas de bioseguridad

Respuestas

1. E	4. A	7. C	10. E
2. E	5. C	8. D	11. B
3. B	6. D	9. D	

BIBLIOGRAFÍA

Haig DM: Poxvirus interference with the host cytokine response. Vet Immunol Immunopathol 1998;63:149. [PMID: 9656450]

Li Y et al: On the origin of smallpox: Correlating variola phylogenics with historical smallpox records. Proc Natl Acad Sci USA 2007;104:15787. [PMID: 17901212]

McFadden G: Poxvirus tropism. Nature Rev Microbiol 2005;3:201. [PMID: 15738948]

Mercer A et al: Molecular genetic analyses of parapoxviruses pathogenic for humans. Arch Virol 1997;13 (Suppl):25.

Moss B: Genetically engineered poxviruses for recombinant gene expression, vaccination, and safety. Proc Natl Acad Sci USA 1996;93:11341. [PMID: 8876137]

Surveillance guidelines for smallpox vaccine (vaccinia) adverse reactions. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2006;55(RR-1):1.

Vaccinia (smallpox) vaccine: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2001. MMWR Recomm Rep 2001;50(RR-10):1.

Wharton M et al: Recommendations for using smallpox vaccine in a pre-event vaccination program: Supplemental recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). MMWR Recomm Rep 2003;52(RR-7):1.

WHO recommendations concerning the distribution, handling and synthesis of variola virus DNA, May 2008. World Health Org Wkly Epidemiol Rec 2008;83:393.



CAPÍTULO

35

Virus de la hepatitis

La hepatitis viral es una enfermedad sistémica que afecta principalmente al hígado. Casi todos los casos de hepatitis viral aguda en niños y adultos se deben a uno de los siguientes virus: virus de la hepatitis A (HAV), el agente causal de la hepatitis viral de tipo A (hepatitis infecciosa); virus de la hepatitis B (HBV), que produce la hepatitis B (hepatitis por el suero); virus de la hepatitis C (HCV), que produce la hepatitis C (causa frecuente de hepatitis después de transfusiones); o el virus de la hepatitis E (HEV), que produce la hepatitis transmitida por vía enteral. En otros capítulos se describen virus adicionales bien caracterizados que pueden causar hepatitis esporádica, tales como virus de la fiebre amarilla, citomegalovirus, virus de Epstein-Barr, virus del herpes simple, virus de la rubéola y enterovirus. Los virus de la hepatitis producen una inflamación aguda del hígado que causa enfermedad clínica caracterizada por fiebre, síntomas digestivos como náusea, vómito e ictericia. Sin importar el tipo de virus, durante la enfermedad aguda se observan lesiones histopatológicas idénticas en el hígado.

PROPIEDADES DE LOS VIRUS DE LA HEPATITIS

En el cuadro 35-1 se muestran las características de los cinco virus de la hepatitis conocidos. En el cuadro 35-2 se presenta la nomenclatura de los virus de la hepatitis, los antígenos y los anticuerpos.

Hepatitis tipo A

El HAV es un miembro diferente de la familia de los Picornaviridae (cap. 36); es una partícula esférica de 27 a 32 nm con simetría icosaédrica cúbica que contiene un genoma lineal de RNA monocatenario con un tamaño de 7.5 kb. Aunque en un principio se clasificó provisionalmente como enterovirus 72, las secuencias de nucleótido y aminoácido del HAV son tan diferentes que se le ubicó en un nuevo género de picornavirus, *Hepatovirus.* Sólo se conoce un serotipo. No existe reactividad cruzada antigénica con HBV o con los otros virus de la hepatitis. El análisis de la secuencia genómica de una región variable en la unión de los genes 1D y 2A permitió clasificar las cepas de HAV en siete genotipos. En el cuadro 36-1 se enumeran las propiedades importantes de la familia *Picornaviridae*.

El HAV es estable al tratamiento con éter al 20%, ácido (pH de 1.0 durante 2 h) y al calor (60°C durante 1 h) y su infectividad puede conservarse por lo menos durante un mes después de desecarse y almacenarse a una temperatura de 25°C y con humedad relativa de 42% o durante años a temperatura de −20°C. El virus se destruye con el autoclave (121°C durante 20 min), ebullición en agua por 5 min, con calor seco (180°C por 1 h), por radiación ultravioleta (1 min a 1.1 watts), mediante el tratamiento con formalina (1:4 000 durante tres días a una temperatura de 37°C) o por el tratamiento con cloro (10 a 15 ppm durante 30 min). Es necesario calentar el alimento a una temperatura >85°C durante un minuto y desinfectar las superficies con hipoclorito de sodio (dilución de blanqueador de cloro a 1:100) para inactivar al HAV. La resistencia relativa de este virus a los procedimientos de desinfección resalta la necesidad de precauciones adicionales para tratar a los pacientes con hepatitis y sus productos.

El HAV se identificó inicialmente en heces y muestras de biopsias de hígado utilizando microscopia electrónica con técnicas inmunológicas como sistema de detección (fig. 35-1). Los análisis serológicos sensibles y la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) permiten la detección de HAV en las heces y otras muestras y determinar anticuerpos específicos en suero.

Los linajes celulares de diversos primates respaldan el desarrollo del HAV, aunque las cepas frescas de virus son difíciles de adaptarse y desarrollarse. Por lo general no se manifiestan efectos citopáticos. Las mutaciones en el genoma viral se seleccionan durante la adaptación al cultivo de tejido.

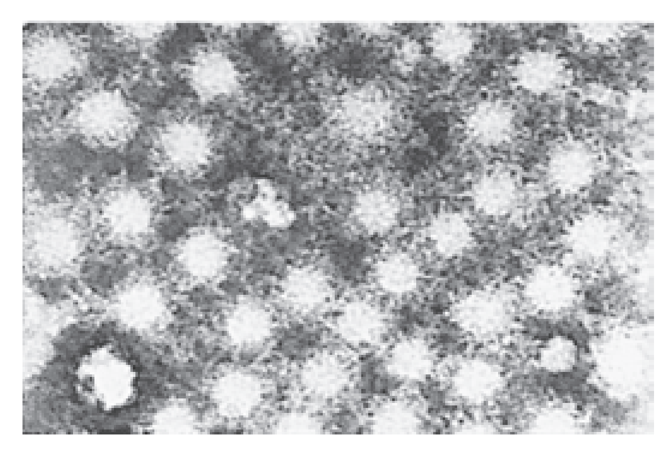


FIGURA 35-1 Microfotografía electrónica de un virus de la hepatitis A de 27 nm agregado con anticuerpo (222 000×). Obsérvese la presencia de un "halo" de anticuerpo alrededor de cada partícula. (Cortesía de DW Bradley, CL Hornbeck y JE Maynard.)

CUADRO 35-1 Características de los virus de la hepatitis

Virus	Hepatitis A	Hepatitis B	Hepatitis C	Hepatitis D	Hepatitis E
Familia	Picornaviridae	Hepadnaviridae	Flaviviridae	No clasificada	Hepeviridae
Género	*Hepatovirus*	*Orthohepadnavirus*	*Hepacivirus*	*Deltavirus*	*Hepevirus*
Virión	27 nm, icosaédrico	42 nm, esférico	60 nm, esférico	35 nm, esférico	30-32 nm, icosaédrico
Envoltura	No	Sí (HbsAg)	Sí	Sí (HBsAg)	No
Genoma	ssRNA	dsDNA	ssRNA	ssRNA	ssRNA
Tamaño del genoma (kb)	7.5	3.2	9.4	1.7	7.2
Estabilidad	Estable en calor y ácido	Sensible al ácido	Sensible al éter, sensible al ácido	Sensible al ácido	Termoestable
Transmisión	Fecal-oral	Parenteral	Parenteral	Parenteral	Fecal-oral
Prevalencia	Alta	Elevada	Moderada	Baja, regional	Regional
Enfermedad fulminante	Infrecuente	Infrecuente	Infrecuente	Frecuente	En embarazo
Enfermedad crónica	Nunca	Frecuente	Frecuente	Frecuente	Nunca
Oncógeno	No	Sí	Sí	?	No

CUADRO 35-2 Nomenclatura y definiciones de virus, antígenos y anticuerpos de la hepatitis

Enfermedad	Componente del sistema	Definición
Hepatitis A	HAV	Virus de la hepatitis A. Microorganismo causante de la hepatitis infecciosa. Un picornavirus, el prototipo del género *Hepatovirus*
	Anticuerpos contra HAV	Anticuerpo contra HAV. Detectable al inicio de los síntomas; persiste de por vida
	Anticuerpos IgM contra HAV	Anticuerpos IgM contra HAV. Indica infección reciente con hepatitis A; positivo hasta 4 a 6 meses después de la infección
Hepatitis B	HBV	Virus de la hepatitis B. Microorganismo causante de la hepatitis sérica. Un hepadnavirus.
	HBsAg	Antígeno de superficie B de la hepatitis; antígeno(s) de superficie de HBV detectable en gran cantidad en suero; varios subtipos identificados
	HBeAg	Antígeno E de la hepatitis B. Se relaciona con la nucleocápside de HBV; indica replicación viral; circula como antígeno soluble en suero
	HBcAg	Antígeno central de la hepatitis B
	Anticuerpos contra HBs	Anticuerpos contra HBsAg. Indica una infección previa con HBV e inmunidad al mismo; presencia de anticuerpo pasivo de HBIG, o respuesta inmunitaria de la vacuna HBV
	Anticuerpos contra HBe	Anticuerpos contra HBeAg. La presencia en el suero de portador de HBsAg indica un título más bajo de HBV
	Anticuerpos contra HBc	Anticuerpos contra HBcAg. Indica infección con HBV en algún momento previo indefinido
	Anticuerpos IgM contra HBc	Anticuerpos IgM contra HBcAg. Indica infección reciente con HBV; positivo durante 4 a 6 meses después de la infección
Hepatitis C	HCV	Virus de la hepatitis C, un microorganismo causante frecuente de la hepatitis subsiguiente a transfusiones. Un flavivirus, género *Hepacivirus*
	Anticuerpos contra HCV	Anticuerpos contra HCV
Hepatitis D	HDV	Virus de la hepatitis D. Microorganismo etiológico de la hepatitis delta; causa infección sólo en presencia de HBV
	HDAg	Antígeno delta (Ag delta). Detectable en la infección aguda inicial por HDV
	Anticuerpos contra HDV	Anticuerpos contra Ag delta (anti-delta). Indica infección previa o presente por HDV
Hepatitis E	HEV	Virus de la hepatitis E. Virus de la hepatitis transmitido por vía entérica. Produce grandes epidemias en Asia, norte y occidente de África y México; transmisión fecal-oral o en el agua. No clasificado
Inmunoglobulinas	IG	Inmunoglobulina USP. Contiene anticuerpos contra HAV; no anticuerpos con HBsAg, HCV o VIH
	HBIG	Inmunoglobulina de la hepatitis B. Contiene altos títulos de anticuerpos contra HBV

Hepatitis tipo B

El HBV se clasifica como un hepadnavirus (cuadro 35-3); desarrolla infecciones crónicas, sobre todo en las personas infectadas durante la lactancia; es un factor importante para el desarrollo de una enfermedad hepática y el carcinoma hepatocelular en estos individuos.

A. Estructura y composición

El estudio con microscopia electrónica con suero positivo para HBsAg revela tres formas morfológicas (figs. 35-2 y 35-3A). La mayoría son partículas esféricas que miden 22 nm de diámetro (fig. 35-3B). Estas partículas pequeñas están constituidas exclusivamente por HBsAg, pues son formas tubulares o filamentosas que tienen el mismo diámetro pero que pueden tener una longitud de más de 200 nm, y se deben a la producción excesiva de HBsAg. Los viriones esféricos más grandes, de 42 nm (originalmente designados como partículas de Dane) se observan con menos frecuencia (fig. 35-2). La superficie externa, o envoltura, contiene HBsAg y rodea un centro de nucleocápside interna de 27 nm que contiene HBcAg (fig. 35-3C). La longitud variable de una región monocatenaria del genoma de DNA circular produce partículas genéticamente heterogéneas con una amplia gama de densidades flotantes.

El genoma viral (fig. 35-4) consta de DNA circular parcialmente bicatenario de 3 200 bp de longitud. Las cepas de HBV diferentes comparten una homología de secuencia nucleotídica de 90 a 98%. La cadena negativa de longitud uniforme de DNA (cadena L o larga) es complementaria a todos los mRNA de HBV; la cadena positiva (cadena S o corta) es variable y tiene una longitud de unidad entre 50 y 80%.

Existen cuatro marcos de lectura abiertos que codifican siete polipéptidos. Éstos son las proteínas estructurales de la superficie del virión y el núcleo, un transactivador transcripcional pequeño (X) y una proteína de polimerasa grande (P) que comprende DNA polimerasa, transcriptasa inversa y actividad de ribonucleasa H. El gen S tiene tres codones de iniciación dentro del marco y codifica el HBsAg principal, así como los polipéptidos que contienen además secuencias pre-S2 o pre-S1 y pre-S2. El gen C tiene dos codones de iniciación dentro del marco y codifica HBcAg más la proteína HBe, que es procesada para producir HBe, la cual es procesada para producir HBeAg soluble.

Las partículas que contienen HBsAg son antigénicamente complejas. Cada una contiene un antígeno específico de grupo, *a*,

CUADRO 35-3 Propiedades importantes de los hepadnavirus[a]

Virión: Casi 42 nm de diámetro en general (nucleocápsides, 18 nm)	
Genoma: Una molécula de DNA bicatenario, circular, de 3.2 kbp. En el virión, la cadena de DNA negativa tiene longitud completa y la cadena de DNA positiva está parcialmente completa. La brecha debe completarse al inicio del ciclo de replicación	
Proteínas: Dos polipéptidos importantes (uno glucosilado) están presentes en HBsAg; un polipéptido está presente en HBcAg	
Envoltura: Contiene HBsAg y lípido	
Replicación: Por medio de una copia de RNA intermedio del genoma de DNA (HBcAg en el núcleo; HBsAg en el citoplasma). Tanto el virus maduro como las partículas esféricas de 22 nm constan de HBsAg secretado por la superficie celular	
Características destacadas: La familia está constituida por muchos tipos que infectan al ser humano y a los animales inferiores (p. ej., patos, ardillas, marmotas). Causa hepatitis aguda y crónica, que a menudo avanza a los estados de portador permanentes y carcinoma hepatocelular	

[a]Para HAV, véanse las propiedades de los picornavirus (cuadro 36-1); para HCV, véase la descripción de los flavivirus (cuadro 38-1).

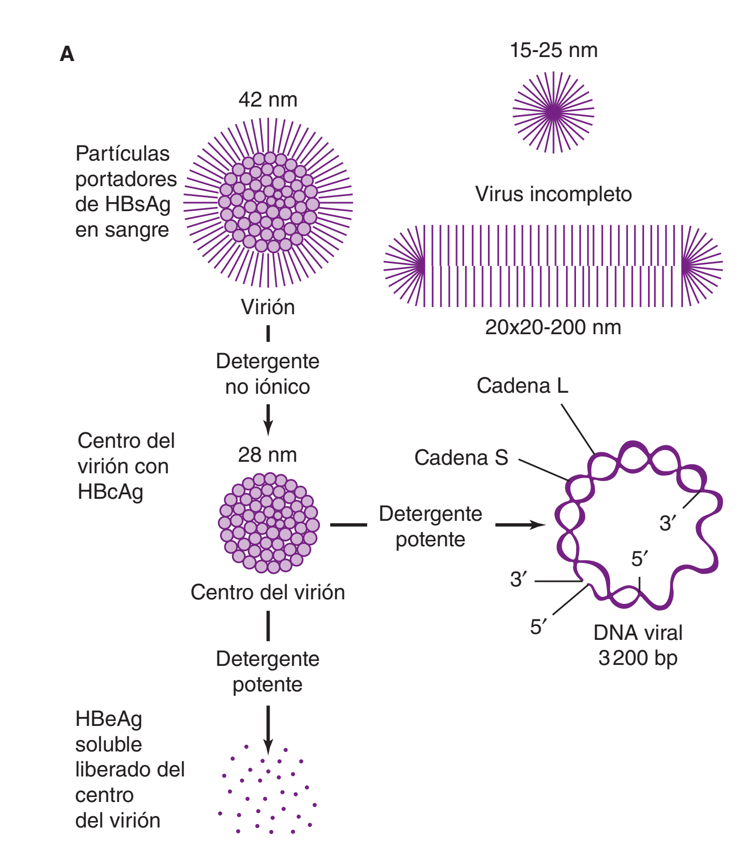




FIGURA 35-2 Formas virales y subvirales de la hepatitis B. **A:** Representaciones esquemáticas de tres formas que contienen HBsAg que pueden identificarse en el suero de portadores de HBV. La partícula de Dane esférica de 42 nm puede destruirse mediante detergentes no iónicos para liberar el centro de 28 nm que contienen el genoma de DNA viral parcialmente bicatenario. Un antígeno soluble, denominado HBeAg, puede liberarse de las partículas del centro mediante el tratamiento con un detergente potente. **B:** Microfotografía electrónica que muestra tres formas de portadores de HBsAg diferentes: partículas esféricas pleomórficas de 20 nm (A), formas filamentosas (B) y partículas de Dane esféricas de 42 nm, la forma infecciosa de HBV (C). (Cortesía de FB Hollinger.)

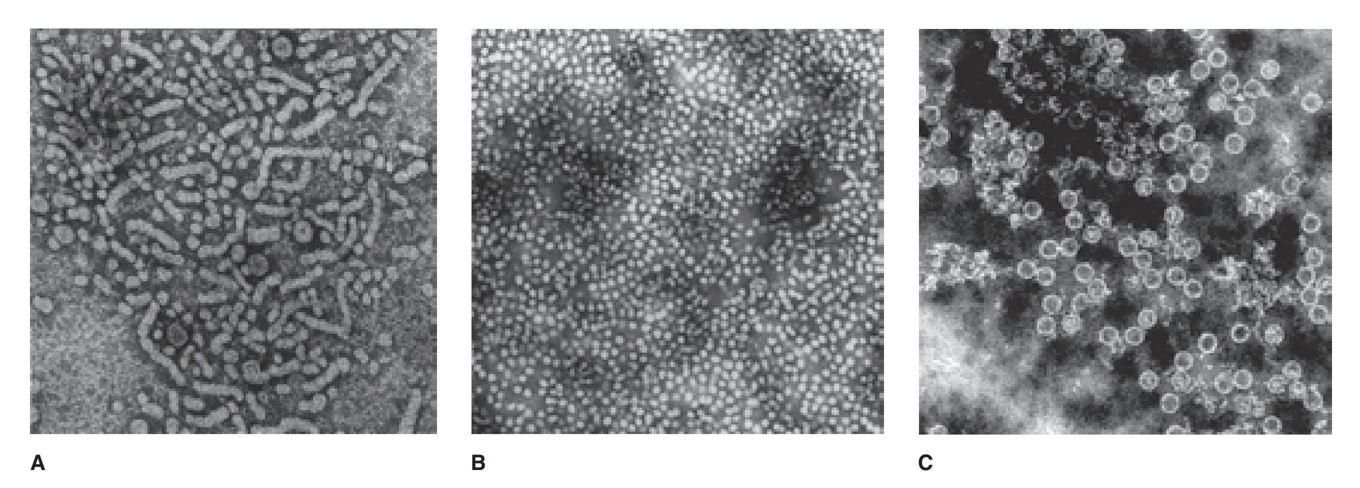


FIGURA 35-3 **A:** Plasma humano no fraccionado positivo para HBsAg. Se muestran los filamentos, las partículas esféricas de 22 nm y algunos viriones de 42 nm (77 000×). **B:** HBsAg purificado (55 000×). (Cortesía de RM McCombs y JP Brunschwig.) **C:** HBcAg purificado de núcleos de hígado infectado (122 400×). El diámetro de las partículas del centro es de 22 nm. (Cortesía de HA Fields, GR Dreesman y G Cabral.)

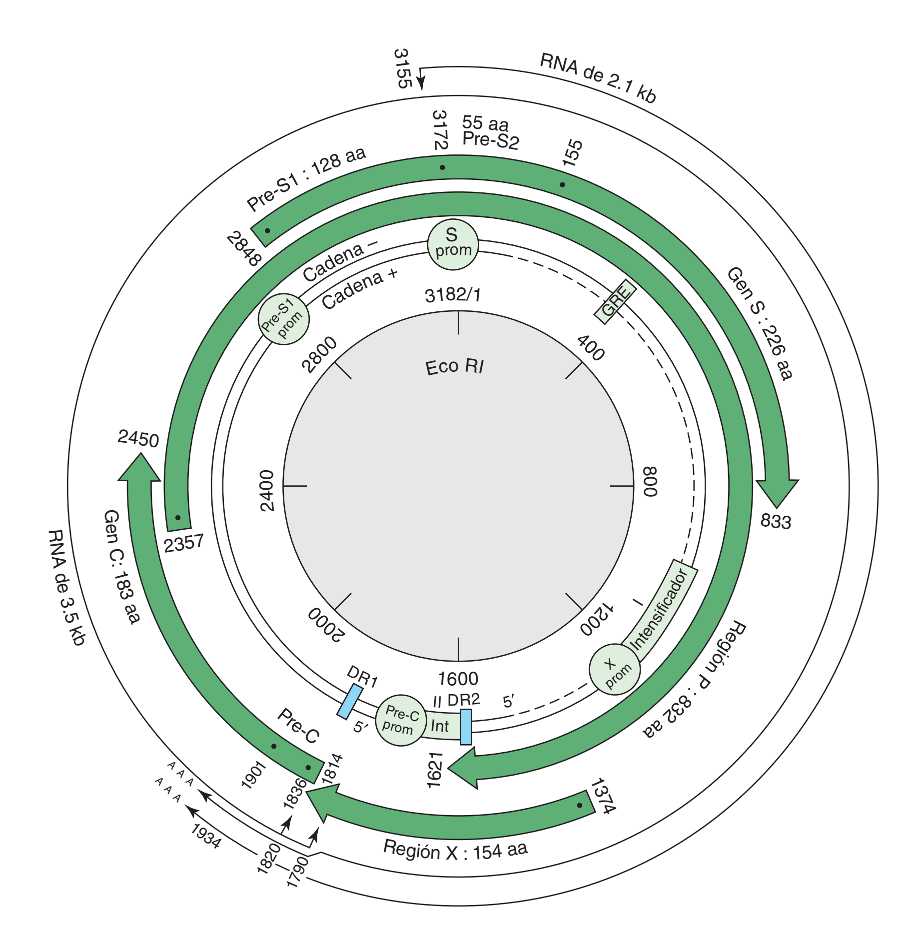


FIGURA 35-4 Organización genética del genoma de HBV. Cuatro marcos de lectura abiertos que codifican siete péptidos están señalados con flechas grandes. Están marcadas las secuencias reguladoras (promotores [prom], los intensificadores [Int] y el elemento reactivo de glucocorticoide [GRE]). Sólo están representados los dos transcriptos principales (centro/pre-genoma y mRNA S). DR1 y DR2 son dos secuencias directamente repetidas de 11 bp en las extremidades 5′ del DNA de cadena negativa y positiva. (Reproducida con autorización de Buendia MD: Hepatitis B viruses and hepatocellular carcinoma. Adv Cancer Res 1992;59:167. Academic Press, Inc., 1992.)

además de las dos porciones de subdeterminantes mutuamente exclusivas, *d/y* y *w/r*. Por consiguiente, se han observado cuatro fenotipos de HBsAg: *adw*, *ayw*, *adr* y *ayr*. En Estados Unidos, *adw* es el subtipo predominante. Estos biomarcadores específicos de virus son útiles en investigaciones epidemiológicas, porque los casos secundarios tienen el mismo subtipo que el caso índice.

La estabilidad de HBsAg no siempre coincide con la del compuesto infeccioso. Sin embargo, los dos son estables a una temperatura de –20°C durante más de 20 años y estables al con-

gelamiento y descongelamiento repetidos. El virus también es estable a una temperatura de 37°C durante 60 min y se mantiene viable después de desecarse y almacenarse a 25°C por lo menos durante una semana. HBV (pero no HBsAg) es sensible a temperaturas más elevadas (100°C durante 1 min) o a periodos de incubación más prolongados (60°C durante 10 h). HBsAg se mantiene estable a un pH de 2.4 hasta por 6 h, pero se pierde la infectividad de HBV. El hipoclorito de sodio al 0.5% (p. ej., blanqueador de cloro a 1:10), destruye la antigenicidad luego de 3 min a concentraciones bajas de proteína, pero las muestras de suero no diluido necesitan concentraciones más altas (5%). HBsAg no se destruye con la radiación ultravioleta del plasma u otros hemoderivados y la infectividad viral también ofrece resistencia a tal tratamiento.

B. Replicación del virus de la hepatitis B

El virión infeccioso se adhiere a las células y pierde su envoltura (fig. 35-5). En el núcleo, el genoma viral parcialmente bicatenario se convierte a DNA bicatenario circular cerrado en forma covalente (cccDNA). El cccDNA sirve de molde para todos los transcriptos virales, incluido el RNA de pregenoma de 3.5 kb. El RNA del pregenoma se encapsida con HBcAg recién sintetizado. Dentro de los núcleos, la polimerasa viral sintetiza mediante transcripción inversa una copia de DNA de tira negativa. La polimerasa comienza a sintetizar la tira de DNA positiva, pero no se concluye el proceso. Los centros experimentan gemación en las membranas pre-Golgi, adquiriendo envolturas que contienen HBsAg y pueden salir de la célula. Como alternativa, los centros pueden reimportarse hacia el núcleo e iniciar otra ronda de replicación en la misma célula.

Hepatitis tipo C

Los estudios clínicos y epidemiológicos y los experimentos de provocación cruzada en los chimpancés habían señalado que existían varios virus de la hepatitis no A, no B (NANB), los cuales, con base en análisis serológicos, no estaban relacionados con HAV o HBV. El principal virus se identificó como el virus de la hepatitis C (HCV). Éste es un virus de RNA de tira positiva, clasificado bajo la familia Flaviviridae, género *Hepacivirus*. Con el análisis de la secuencia de RNA se pueden diferenciar varios virus en por lo menos seis genotipos principales y más de 100 subtipos. Los genotipos difieren entre sí en 25 a 35% al nivel del nucleótido; los subtipos difieren entre sí en 15 a 25%. El genoma es de 9.4 kb de tamaño y codifica una proteína central, dos glucoproteínas de la envoltura y varias proteínas no estructurales (fig. 35-6). La expresión de clones de cDNA de HCV en levaduras dio por resultado el desarrollo de análisis serológicos para anticuerpos contra HCV. La mayor parte de los casos de hepatitis de NANB consecutivas a transfusiones eran causados por HCV.

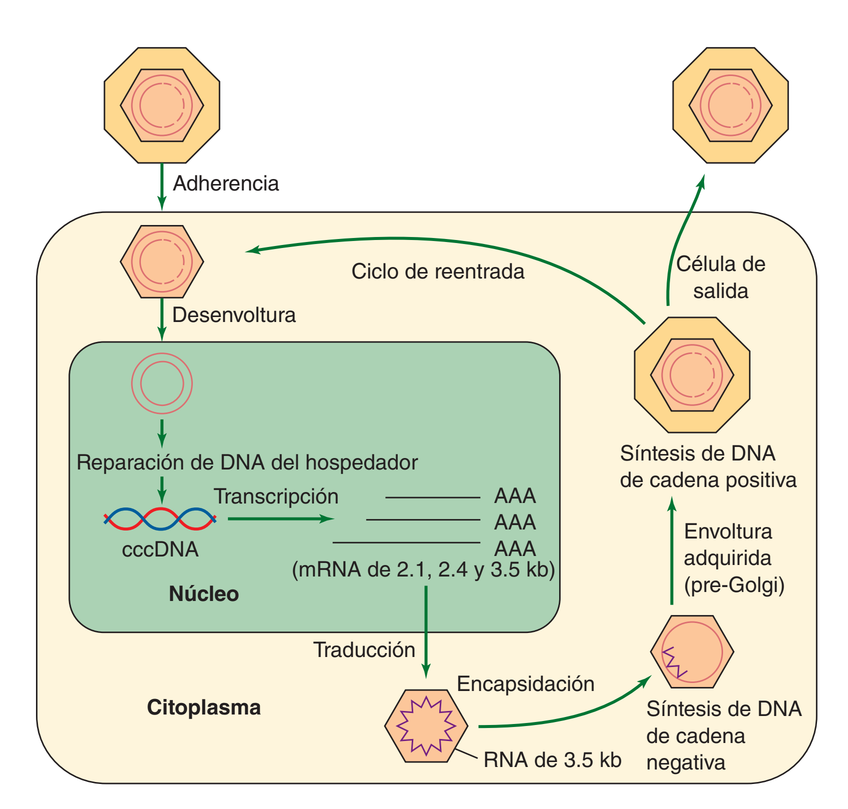


FIGURA 35-5 Ciclo de replicación de HBV. La adherencia de HBV a un receptor en la superficie de los hepatocitos ocurre a través de una porción de la región pre-S de HBsAg. Después de la desenvoltura del virus, las enzimas celulares no identificadas convierten el DNA parcialmente bicatenario en DNA circular cerrado en forma covalente (ccc) que puede detectarse en el núcleo. El cccDNA sirve de plantilla para la producción de mARN de HBV y el pregenoma de RNA de 3.5 kb. El pregenoma sufre encapsidación por una señal de envoltura ubicada cerca del extremo 5′ del RNA en partículas del centro recién sintetizadas, donde sirve de plantilla para la transcriptasa inversa de HBV codificada dentro del gen de la polimerasa. Una actividad de ribonucleasa H de la polimerasa retira la plantilla de RNA a medida que se sintetiza el DNA de cadena negativa. La síntesis de DNA de cadena positiva no procede hasta su conclusión dentro del centro, lo que da por resultado productos intermedios replicativos que constan de DNA de cadena negativa de longitud completa más DNA de cadena positiva de longitud variable (20 a 80%). Las partículas de centro que contienen estos intermediarios replicativos de DNA experimentan brotes desde las membranas de pre-Golgi (adquiriendo HBsAg en el proceso) y pueden salir de la célula o volver a entrar en el ciclo de infección intracelular. (Reproducida con autorización de Butel JS, Lee TH, Slagle BL: Is the DNA repair system involved in hepatitis-B-virus-mediated hepatocellular carcinogenesis? Trends Microbiol 1996;4:119.)

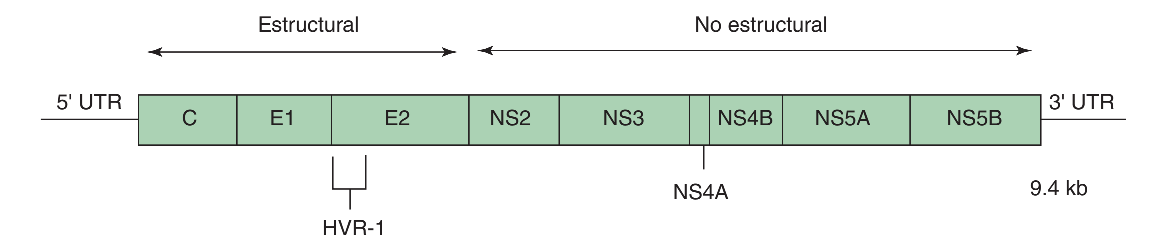


FIGURA 35-6 Organización genética del genoma de HCV. El marco de lectura abierto individual es expresado como una poliproteína que se procesa; se muestran las posiciones de los dominios estructurales y no estructurales. HVR-1 representa la región muy variable de una glucoproteína de envoltura. (Redibujada con autorización de Chung RT, Liang TJ: Hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma. En: *Microbes and Malignancy: infection as a Cause of Human Cancers.* Parsonnet J [editor]. Oxford University Press, 1999.)

Casi todas las nuevas infecciones por HCV son subclínicas. La mayor parte de los pacientes infectados con este virus (70 a 90%) presenta hepatitis crónica y muchos corren el riesgo de evolucionar a hepatitis activa crónica y cirrosis (10 a 20%). En algunos países, como en Japón, la infección por HCV a menudo desencadena carcinoma hepatocelular. Casi 25 000 individuos fallecen cada año por hepatitis crónica y cirrosis en Estados Unidos; la HCV al parecer contribuye de manera importante a esta mortalidad (alrededor de 40%).

La HCV manifiesta diversidad genómica con diferentes genotipos (clados) de predominio en diferentes partes del mundo. El virus experimenta una variación de la secuencia durante las infecciones crónicas. Esta población viral compleja en un hospedador se designa como "cuasiespecie". Tal diversidad genética no se correlaciona con diferencias en la enfermedad clínica, aunque existen diferencias en la respuesta al tratamiento antiviral según el genotipo viral.

Hepatitis tipo D (hepatitis delta)

En algunas infecciones por HBV se detectan el antígeno delta (Ag delta) y el anticuerpo delta (anti-delta). El antígeno se encuentra dentro de determinadas partículas de HBsAg. En la sangre, HDV (virus delta) contiene Ag delta (HDAg) rodeado por una envoltura de HBsAg. Tiene una partícula de 35 a 37 nm y una densidad flotante de 1.24 a 1.25 g/ml en CsCl. El genoma de HDV consta de un RNA monocatenario, circular, de polaridad negativa, de 1.7 kb de tamaño. Es el más pequeño de los microorganismos patógenos humanos conocido y se parece a los subvirus patógenos de plantas, es decir, viroides. No existe ninguna homología con respecto al genoma de HDV. La HDAg es la única proteína codificada por RNA de HDV y es diferente a los determinantes antigénicos de HBV. El HDV es un virus defectuoso que adquiere una cubierta de HBsAg para su transmisión. A menudo se relaciona con las formas más graves de hepatitis en los pacientes positivos para HBsAg. Se clasifica en el género *Deltavirus,* el cual no se asigna a ninguna familia de virus.

Hepatitis tipo E

El virus de la hepatitis E (HEV) se transmite por vía entérica y se presenta en forma epidémica en los países en vías de desarrollo, donde los suministros de agua o alimentos a veces están contaminados por heces. Fue documentada inicialmente en muestras obtenidas durante el brote epidémico de 1955 en Nueva Delhi, cuando se presentaron 29 000 casos de hepatitis ictérica tras la contaminación del suministro de agua potable de la ciudad por aguas residuales. Las mujeres embarazadas pueden tener una tasa de mortalidad elevada (20%) si presentan hepatitis fulminante. Se ha clonado el genoma viral y es un RNA de polaridad positiva, monocatenario de 7.2 kb. El virus se parece a los calicivirus pero se ha remplazado en una nueva familia de virus, Herpesviridae, del género *Herpesvirus.* Las cepas animales de HEV son frecuentes en todo el mundo. En Estados Unidos hay indicios de infecciones por HEV o similares a HEV en roedores, cerdos, carneros y ganado bovino. Existe la posibilidad de que el virus se difunda de los animales al ser humano.

INFECCIONES POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS EN SERES HUMANOS

Anatomía patológica

El término hepatitis es un término general que significa inflamación del hígado. En el examen microscópico hay una degeneración de la célula parenquimatosa en placas, con necrosis de hepatocitos, una reacción inflamatoria lobular difusa y destrucción de los cordones de hepatocitos. Estos cambios parenquimatosos se acompañan de hiperplasia de células reticuloendoteliales (de Kupffer), infiltración periportal por células mononucleares y degeneración celular. A menudo se observan zonas circunscritas de necrosis. En una etapa más avanzada de la enfermedad hay una acumulación de macrófagos cerca de los hepatocitos en degeneración. La conservación de la estructura reticular permite la regeneración del hepatocito de manera que con el tiempo puede recuperarse la estructura tan ordenada del lóbulo hepático. El tejido hepático lesionado suele restablecerse en un lapso de ocho a 12 semanas.

Los portadores crónicos de HBsAg pueden presentar o no manifestaciones clínicas evidentes de enfermedad hepática. La hepatitis viral persistente (no resuelta), una enfermedad benigna leve que puede presentarse tras la hepatitis B aguda en 8 a 10% de los pacientes adultos, se caracteriza por concentraciones esporádicas anormales de aminotransferasa y hepatomegalia. En el examen histológico está conservada la estructura lobular, observándose inflamación portal, hepatocitos hinchados y pálidos (disposición en empedrado) y fibrosis leve a nula. Esta lesión a menudo se observa en portadores asintomáticos, por lo general no evoluciona hacia la cirrosis y tiene un pronóstico favorable.

La hepatitis activa crónica se caracteriza por una gama de cambios histológicos que van desde la inflamación y la necrosis hasta la destrucción de la estructura reticular normal con formación de puentes entre las tríadas portales o las venas hepáticas terminales. Se detecta HBV en 10 a 50% de estos pacientes.

Algunas veces durante una hepatitis viral aguda, puede ocurrir daño más considerable que impida la regeneración ordenada de las células hepáticas. Dicha necrosis hepatocelular fulminante o masiva se observa en 1 a 2% de los pacientes ictéricos con hepatitis B. Es 10 veces más frecuente en presencia de una infección concomitante por HDV que en ausencia de ésta.

Ninguno de los virus de la hepatitis suele ser citopatógeno y se piensa que la lesión celular observada en la hepatitis es mediada por factores inmunitarios.

Tanto HBV como HCV influyen de manera importante en el desarrollo de carcinoma hepatocelular que puede ocurrir muchos años (15 a 60) después del establecimiento de una infección crónica.

Manifestaciones clínicas

En el cuadro 35-4 se resumen las manifestaciones clínicas de las infecciones por HAV, HBV y HCV. En los casos individuales no es posible establecer una diferenciación clínica fiable entre los casos causados por los virus de la hepatitis.

Otras enfermedades virales que pueden presentarse como hepatitis son mononucleosis infecciosa, fiebre amarilla, infección por citomegalovirus, herpes simple, rubéola y algunas infecciones por enterovirus. En ocasiones se presenta hepatitis como una complicación de leptospirosis, sífilis, tuberculosis, toxoplasmosis o amebiasis, todas las cuales son susceptibles a la farmacoterapia específica. Las causas no infecciosas son obstrucción biliar, cirrosis biliar primaria, enfermedad de Wilson, toxicidad de fármacos y reacciones de hipersensibilidad a fármacos.

En la hepatitis viral, la presencia de la ictericia suele ir precedida de síntomas gastrointestinales como náusea, vómito, anorexia

CUADRO 35-4 Características epidemiológicas y manifestaciones clínicas de las hepatitis virales de tipos A, B y C

Características	Hepatitis viral de tipo A	Hepatitis viral de tipo B	Hepatitis viral de tipo C
Periodo de incubación	10-50 días (promedio 25-30)	50-180 días (promedio, 60-90)	15-160 días (promedio, 50)
Principal distribución por edades	Niños,[a] adultos jóvenes	15-29 años,[b] lactantes	Adultos[b]
Frecuencia estacional	Durante todo el año pero tiende a tener un máximo en el otoño	Durante todo el año	Durante todo el año
Vía de infección	De predominio fecal-oral	De predominio parenteral	De predominio parenteral
Presentación de virus			
Sangre	2 semanas antes $\leq$1 semana después de la ictericia	Meses a años	Meses a años
Heces	2 semanas antes a 2 semanas después de la ictericia	Ausente	Probablemente ausente
Orina	Infrecuente	Ausente	Probablemente ausente
Saliva, semen	Infrecuente (saliva)	A menudo presente	Presente (saliva)
Características clínicas y de laboratorio			
Inicio	Súbito	Insidioso	Insidiosa
Fiebre >38°C	Frecuente	Menos frecuente	Menos frecuente
Duración de elevación de la aminotransferasa	1-3 semanas	1-6+ meses	1-6+ meses
Inmunoglobulinas (concentraciones de IgM)	Elevadas	Normal a ligeramente elevadas	Normal a ligeramente elevadas
Complicaciones	Infrecuentes, no hay cronicidad	Cronicidad en 5-10% (95% de recién nacidos)	Cronicidad en 70-90%
Tasa de mortalidad (casos ictéricos)	<0.5%	<1-2%	0.5-1%
HBsAg	Ausentes	Presente	Ausente
Inmunidad			
Homólogos	Sí	Sí	Probablemente no
Heterólogos	No	No	No
Duración	Probablemente de por vida	Probablemente de por vida	?
Inmunoglobulina intramuscular (IG, γ-globulina, ISG)	Previene por lo regular la ictericia	Evita la ictericia sólo si la inmunoglobulina tiene una potencia suficiente contra HBV	?

[a]La hepatitis no ictérica es frecuente en los niños.

[b]En el grupo de edad de 15 a 29 años, las hepatitis B y C suelen relacionarse con toxicomanía o conducta sexual promiscua. Los pacientes con HBV o HCV relacionados con transfusiones por lo general tienen más de 29 años de edad.

y fiebre leve. Puede aparecer ictericia a los pocos días del periodo prodrómico, pero es más frecuente la hepatitis anictérica.

Las manifestaciones extrahepáticas de la hepatitis viral (principalmente de tipo B) comprenden un pródromo transitorio parecido al de la enfermedad por el suero y que se manifiesta por fiebre, exantema y poliartritis; vasculitis necrosante (poliarteritis nodular); y glomerulonefritis. Se ha observado que los complejos inmunitarios circulantes son causa de estos síndromes. Las enfermedades relacionadas con infecciones crónicas por HCV son la crioglobulinemia mixta y la glomerulonefritis. Las manifestaciones extrahepáticas son poco comunes en las infecciones por HAV.

La hepatitis viral no complicada pocas veces persiste más de 10 semanas sin mejoría. Se presentan recidivas en 5 a 20% de los casos y se manifiestan por anomalías de la función hepática con o sin recidivas de los síntomas.

Cada tipo de hepatitis viral tiene un promedio de incubación diferente (cuadro 35-4). Sin embargo, hay un considerable empalme en el tiempo y el paciente puede no saber cuándo ocurrió la exposición, de manera que el periodo de incubación no es muy útil para determinar la causa viral específica.

La enfermedad por lo común es de inicio súbito en la infección por HAV (al cabo de 24 h), a diferencia del inicio más insidioso en caso de las infecciones por HBV y HCV. En casi todos los pacientes con hepatitis A hay restablecimiento completo; no se ha observado la cronicidad (cuadro 35-5). La enfermedad es más grave en adultos que en niños, en quienes a menudo pasa inadvertida. Las recaídas de infección por HAV pueden presentarse uno a cuatro meses después que se han resuelto los síntomas iniciales.

El pronóstico después de la infección por HBV es variable y fluctúa desde el restablecimiento completo hasta evolución a hepatitis crónica y, en algunas ocasiones, el deceso por afección es fulminante. En los adultos, 65 a 80% de las infecciones pasan inadvertidas y 90 a 95% de todos los pacientes se restablecen por completo. En cambio, 80 a 95% de los lactantes y niños pequeños infectados por HBV se vuelven portadores crónicos (cuadro 35-6) y su suero se mantiene positivo para HBsAg. La mayor parte de los individuos con infección crónica por HBV permanecen asintomáticos por muchos años; puede o no haber signos bioquímicos e histológicos de la hepatopatía. Los portadores crónicos tienen un riesgo elevado de desarrollar carcinoma hepatocelular.

La hepatitis fulminante a veces sobreviene durante una hepatitis viral aguda, que se define como una encefalopatía hepática en las primeras 8 h de iniciada la enfermedad en pacientes que no han tenido antes una hepatopatía. Es letal en 70 a 90% de los casos y la supervivencia es infrecuente después de los 40 años de edad. La enfermedad fulminante por HBV se relaciona con la infección por otros microorganismos, incluido HDV. En la mayor parte de los pacientes que sobreviven hay restablecimiento completo del parénquima y función hepáticos. La enfermedad fulminante pocas veces se presenta en las infecciones por HAV o HCV.

La hepatitis C suele ser clínicamente leve y sólo se observa un incremento mínimo a moderado de las enzimas hepáticas. La hospitalización es poco común y la ictericia ocurre en menos de 25% de los pacientes. Pese a las manifestaciones leves de la enfermedad, 70 a 90% de los casos presenta hepatopatía crónica. La mayor parte de los pacientes no presenta síntomas, pero la evolución histológica suele revelar signos de hepatitis activa crónica, sobre todo en aquellos cuya enfermedad se adquiere después de una transfusión. Muchos pacientes (20 a 50%) presentan cirrosis e incremento del riesgo de desarrollar carcinoma hepatocelular (5 a 25%) decenios más tarde. Alrededor de 40% de los casos de hepatopatía crónica se relaciona con HCV, lo que resulta en 8 000 a 10 000 decesos anuales en Estados Unidos. La hepatopatía en etapa terminal relacionada con HCV es la indicación más frecuente para los trasplantes hepáticos en el adulto.

CUADRO 35-5 Desenlaces de la infección por el virus de la hepatitis A[a]

Desenlace	Niños	Adultos
Infección no aparente (subclínica)	80-95%	10-25%
Enfermedad ictérica	5-20%	75-90%
Restablecimiento completo	> 98%	>98%
Enfermedad crónica	Ninguna	Ninguna
Tasa de mortalidad	0.1%	0.3-2.1%

[a]Adaptado con autorización de Hollinger FB, Ticehurst JR: Hepatitis A virus. En: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al (editors). Lippincott-Raven, 1996.

Datos de laboratorio

La biopsia hepática permite establecer un diagnóstico histológico de la hepatitis. Las pruebas de función hepática anormales, como la alanina aminotransferasa (ALT) y la bilirrubina séricas complementan los datos clínicos, anatomopatológicos y epidemiológicos.

CUADRO 35-6 Transmisión del virus de la hepatitis B y gama de desenlaces de la infección

	Transmisión[a]		
	Vertical (Asia)	Contacto (África)	Parenteral, sexual
Edad en la que ocurre la infección	Recién nacidos, lactantes	Niños pequeños	Adolescentes, adultos
Restablecimiento tras una infección aguda (%)	5	20	90-95
Evolución a la infección crónica (%)	95	80	5-10
Portadores crónicos[b] (% de población total)	10-20	10-20	0.5

[a]Transmisión vertical y relacionada con contactos en regiones endémicas; transmisión parenteral y sexual son los principales mecanismos de transmisión en las regiones no endémicas.

[b]Con riesgo elevado de presentar carcinoma hepatocelular.

A. Hepatitis A

En la figura 35-7 se muestran los eventos clínicos, virológicos y serológicos que ocurren tras la exposición a HAV. Se han detectado partículas virales mediante microscopia electrónica y técnicas inmunológicas en extractos fecales de pacientes con hepatitis A (fig. 35-1). El virus aparece en las primeras etapas de la enfermedad y desaparece en las primeras dos semanas luego que comienza la ictericia.

El HAV se detecta en hígado, heces, bilis y sangre de seres humanos con infección natural y en primates no humanos infectados experimentalmente mediante inmunoanálisis, análisis de hibridación de ácido nucleico o PCR. Se detecta HAV en las heces desde casi dos semanas antes del inicio de la ictericia hasta dos semanas después.

Los anticuerpos contra HAV aparecen en la fracción IgM durante la fase aguda, alcanzando un máximo unas dos semanas después de la elevación de las enzimas hepáticas (cuadro 35-7). Los anticuerpos IgM contra HAV por lo general disminuyen a concentraciones no detectables en los primeros tres a seis meses. Los anticuerpos IgG contra HAV aparecen poco después del inicio de la enfermedad y persiste por decenios. Por consiguiente, la detección de anticuerpos IgM específicos contra HAV en la sangre de un paciente con infección aguda confirma el diagnóstico de hepatitis A. El enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA) es el método ideal para determinar los anticuerpos contra HAV.

B. Hepatitis B

En la figura 35-8 se ilustran los eventos clínicos y serológicos que ocurren tras la exposición a HBV y se resumen en el cuadro 35-8. La actividad de DNA polimerasa, DNA de HBV y HBeAg, que es representativa de la etapa virémica de la hepatitis B, ocurre en las primeras fases del periodo de incubación, al mismo tiempo o poco después de la aparición inicial de HBsAg. Las concentraciones elevadas de partículas de HBV pueden estar presentes en la sangre (hasta 10^{10} partículas/ml) durante la fase inicial de la infección; la transmisión infecciosa es máxima en esta etapa.

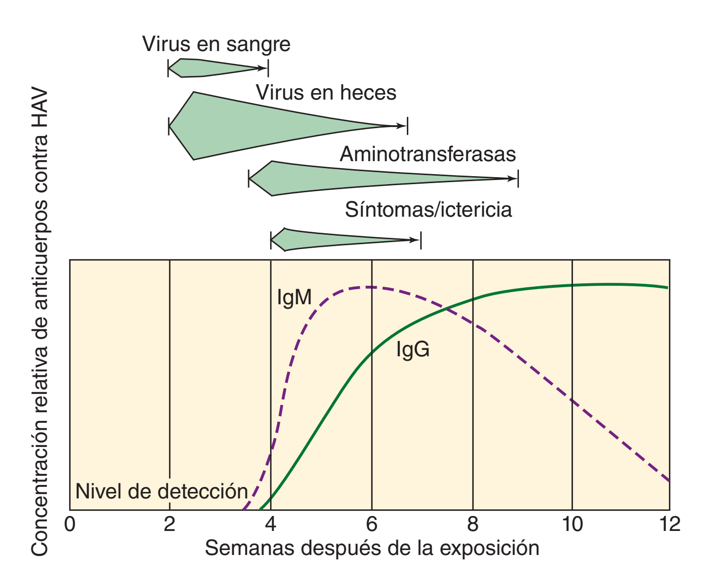


FIGURA 35-7 Fenómenos inmunitarios y biológicos relacionados con la infección humana por el virus de la hepatitis A. (Reproducida de Hollinger FB, Ticehurst JR: Hepatitis A virus. En: *Fields Virology,* 3rd ed. Fields BN et al [editors]. Lippincott-Raven, 1996. Modificada con autorización de Hollinger FB, Dienstag JL: Hepatitis viruses. En: *Manual of Clinical Microbiology,* 4th ed. American Society for Microbiology, 1985.)

CUADRO 35-7 Interpretación de biomarcadores serológicos de HAV, HCV y HDV en pacientes con hepatitis

Resultados de análisis	Interpretación
Anticuerpos IgM contra HAV	Infección aguda por HAV
Positividad para anticuerpos IgM contra HAV	Infección previa por HAV
Positividad para anticuerpos contra HCV	Infección actual o previa por HCV
Positividad para anticuerpos contra HDV, positividad para HBsAg	Infección por HDV
Positividad para anticuerpos contra HDV, falta de respuesta para anticuerpos IgM contra HBc	Infección concomitante por HDV y HBV
Positividad para anticuerpos contra HDV, negatividad para anticuerpos IgM contra HBc	Sobreinfección de infección crónica por HBV con HDV

HBsAg suele ser detectable dos a seis semanas antes de los signos clínicos y bioquímicos de hepatitis y persiste durante toda la evolución clínica de la enfermedad pero por lo común desaparece hacia el sexto mes después de la exposición.

A menudo se detectan concentraciones altas de anticuerpos IgM específicos contra HBc al inicio de la enfermedad clínica. Como este anticuerpo se dirige contra el componente central interno de 27 nm de HBV, su presencia en el suero indica replicación viral. Los anticuerpos contra HBsAg se detectan inicialmente en un periodo variable tras la desaparición de HbsAg que se encuentra presente en concentraciones bajas. Antes que desaparezca HBsAg, HBeAg es remplazado por anticuerpos contra HBe, lo que señala el inicio de la resolución de la enfermedad. Las concentraciones de anticuerpos contra HBe a menudo ya no son detectables después de seis meses.

Por definición, los portadores crónicos de HBV son aquellos en quienes HBsAg persiste por más de seis meses en la presencia de HBeAg o anticuerpos contra HBe. HBsAg puede persistir por años después de la pérdida de HBeAg. A diferencia de los títulos elevados de anticuerpos IgM específicos contra HBc que se observan en la enfermedad aguda, se encuentran títulos bajos de anticuerpos IgM contra HBc en el suero de la mayoría de los portadores crónicos de HBsAg. Por lo común son detectables pequeñas cantidades de DNA de HBV en el suero mientras haya HbsAg circulante.

Los métodos de detección más útiles son ELISA para antígenos y anticuerpos de HBV y PCR para DNA viral.

C. Hepatitis C

En la figura 35-9 se muestran las manifestaciones clínicas y serológicas relacionadas con las infecciones por HCV. La mayor parte de las infecciones primarias son asintomáticas o clínicamente leves (20 a 30% presenta ictericia y 10 a 20% sólo presenta síntomas inespecíficos como anorexia, malestar y dolor abdominal). Los análisis serológicos están disponibles para el diagnóstico de la infección por HCV. Los inmunoanálisis enzimáticos (EIA) detectan anticuerpos contra HCV pero no distinguen entre la infección aguda y la crónica o la que ya se resolvió (cuadro 35-7). Los anticuerpos contra HCV se pueden detectar en 50 a 70% de los pacientes al inicio de los síntomas, en tanto que en otros la aparición de anticuerpos tarda tres a seis semanas. Los anticuerpos

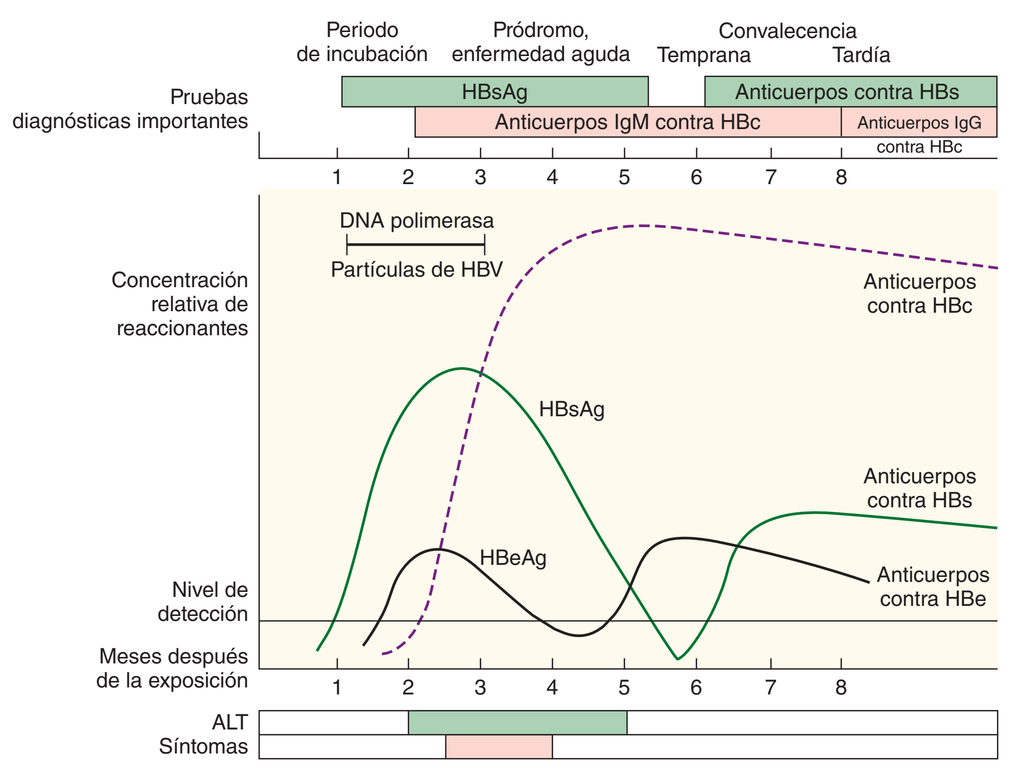


FIGURA 35-8 Manifestaciones clínicas y serológicas que se presentan en un paciente con infección aguda por el virus de la hepatitis B. Las pruebas diagnósticas frecuentes y su interpretación se presentan en el cuadro 35-8. (Reproducida con autorización de Hollinger FB, Dienstag JL, Murray PR: Hepatitis B and D viruses. En: *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, 1995.)

CUADRO 35-8 Interpretación de los biomarcadores serológicos de HBV en pacientes con hepatitis[a]

Resultados del análisis			
HBsAg	**Anticuerpos contra HBs**	**Anticuerpos contra HBc**	**Interpretación**
Positivo	Negativo	Negativo	Infección aguda inicial por HBV. Es necesaria la confirmación para descartar la reactividad específica
Positivo	(±)	Positivo	Infección por HBV, sea aguda o crónica. Diferenciar con Anticuerpos IgM contra HBc. Determinar el grado de actividad de replicación (infectividad) con HBeAg o DNA de HBV
Negativo	Positivo	Positivo	Indica infección previa por HBV e inmunidad contra la hepatitis B
Negativo	Negativo	Positivo	Las posibilidades son: infección por HBV en un pasado distante; portador de HBV "de bajo grado"; "oportunidad" entre la desaparición de HBsAg y la aparición de anticuerpos contra HBs; o reacción falsa positiva o inespecífica. Investigar con anticuerpos IgM contra HBc. Cuando están presentes, los anticuerpos contra HBe ayudan a validar la reactividad de anticuerpos contra HBc
Negativo	Negativo	Negativo	Nunca infectado con HBV. Las posibilidades comprenden otro microorganismo infeccioso, lesión hepática tóxica, trastorno de inmunidad, enfermedad hereditaria del hígado o enfermedad de las vías biliares
Negativo	Positivo	Negativo	Respuesta de tipo vacuna

[a]Modificado y reproducido con autorización de Hollinger FB: Hepatitis B virus. En: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al (editors). Lippincott-Raven, 1996.

se dirigen contra el centro, la envoltura y las proteínas NS3 y NS4 y tienden a mostrar títulos relativamente bajos. Los análisis a base de ácido nucleico (p. ej., reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa) detectan RNA de HCV en la circulación y son útiles para la vigilancia periódica de los pacientes que reciben tratamiento antiviral. Los análisis de ácido nucleico también se utilizan para la genotipificación de cepas de HCV.

Las infecciones por HBV no detectables son poco comunes (alrededor de 33%) en pacientes con hepatopatía crónica por HCV. Las infecciones ocultas son aquellas en las que los pacientes carecen de HBsAg detectable pero se puede identificar DNA de HBV en hígado o muestras de suero. Estas infecciones concomitantes por HBV no reconocidas pueden tener importancia clínica.

D. Hepatitis D

En la figura 35-10 se muestran los patrones serológicos tras la infección por HDV, los cuales se enumeran en el cuadro 35-7. Como HDV depende de una infección concomitante por HBV, la infección aguda de tipo D se presenta como infección simultánea

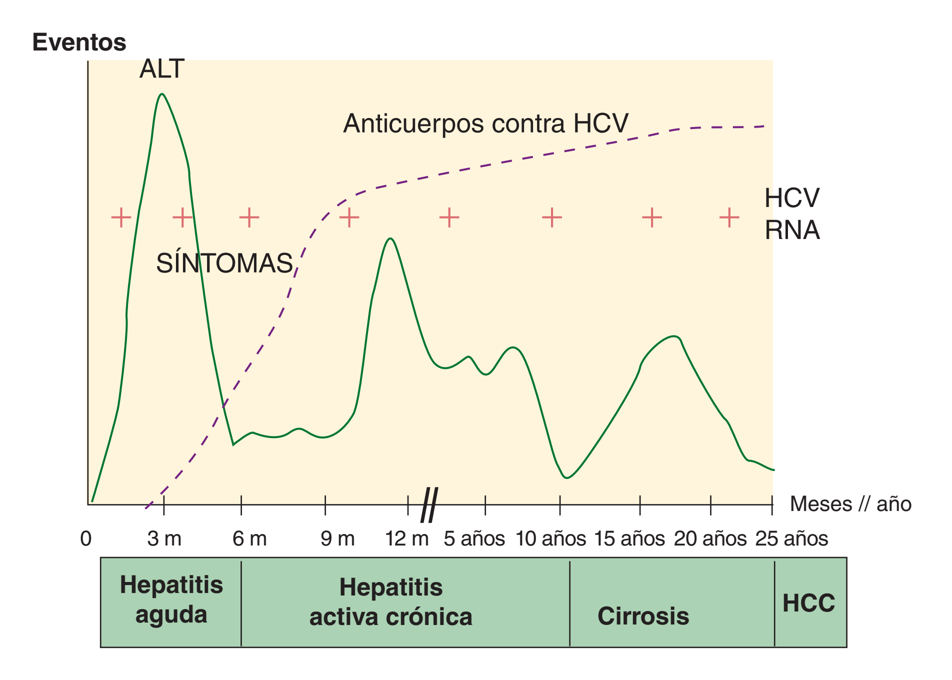


FIGURA 35-9 Manifestaciones clínicas y serológicas relacionadas con la infección por el virus de la hepatitis C. ALT, alanina aminotransferasa; HCC, carcinoma hepatocelular. (Reproducida con autorización de Garnier L, Inchauspé G, Trépo C: Hepatitis C virus. En: *Clinical Virology*, 2nd ed. Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG [editors]. ASM Press, 2002.)

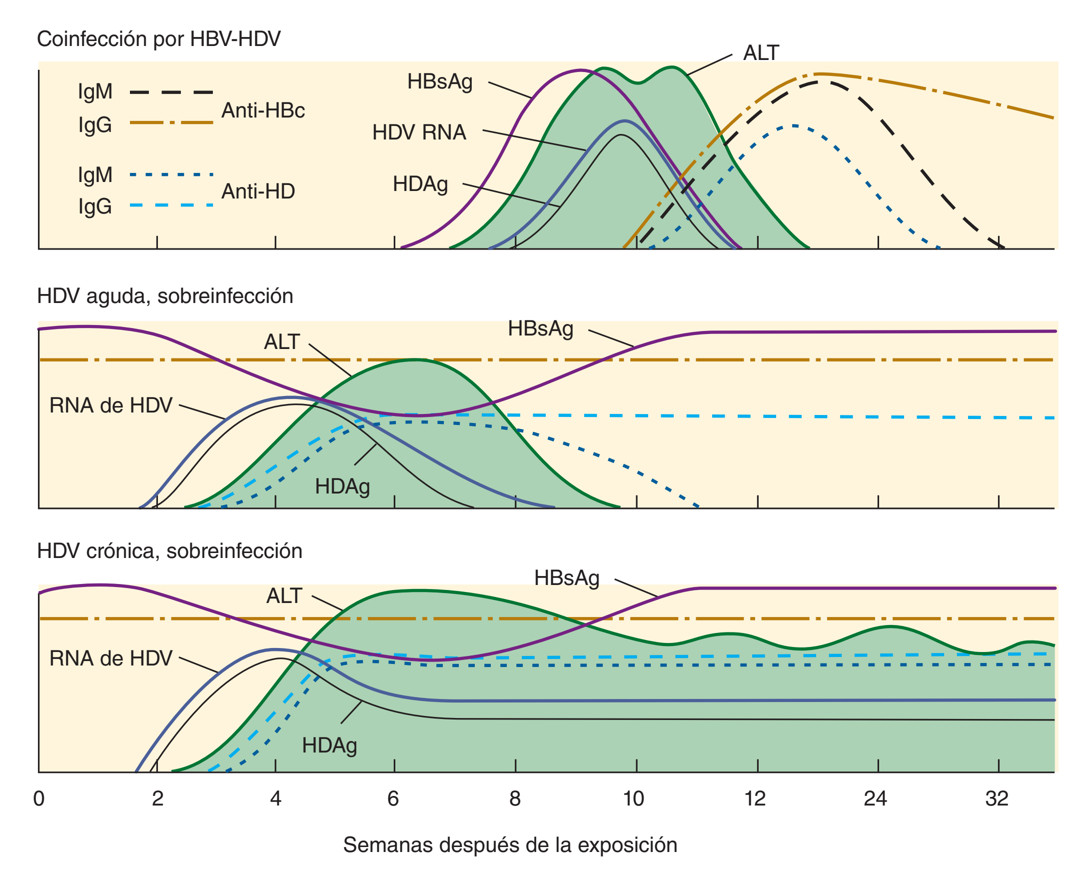


FIGURA 35-10 Patrones serológicos de la hepatitis de tipo D tras la infección concomitante o sobreinfección de una persona con una infección por HBV. **Arriba:** Hepatitis B y hepatitis D agudas concomitantes. **Centro:** La hepatitis D aguda está superpuesta a una infección crónica por el virus de la hepatitis B. **Abajo:** Hepatitis D aguda que evoluciona a la hepatitis crónica, superpuesta a una infección crónica por el virus de la hepatitis B. (Reproducida con autorización de Purcell RH et al: Hepatitis. En: *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections*, 6th ed. Schmidt NJ, Emmons RW [editors]. American Public Health Association, 1989.)

(infección concomitante) por HBV o como una sobreinfección en una persona con infección crónica por HBV. En el patrón de infección concomitante, se forman anticuerpos contra HDAg al final de la fase aguda de la infección y puede tener un título bajo.

Son preferibles los análisis de HDAg o de RNA de HDV en el suero o para anticuerpos IgM específicos contra HDV. Todos los biomarcadores de la replicación de HDV desaparecen durante la convalecencia; incluso los anticuerpos contra HDV pueden desaparecer al cabo de meses a años. Sin embargo, la reinfección por HDV suele ocasionar una infección persistente por HDV (más de 70% de los casos). Las altas concentraciones de anticuerpos IgM e IgG contra HD persisten, lo mismo que las concentraciones de RNA de HDV y HDAg. Las sobreinfecciones por HDV pueden relacionarse con una hepatitis fulminante.

Interacciones de virus y hospedador

Hoy en día hay datos indicativos de que existen cinco virus de la hepatitis: tipos A, B, C, D y E. Se considera que una sola infección con cualquiera de ellos confiere una protección homóloga pero no heteróloga contra la recidiva de la infección. Una posible excepción es HCV, en la que puede ocurrir la reinfección.

La mayor parte de los casos de hepatitis de tipo A al parecer se presenta sin ictericia durante la infancia y hacia la edad adulta tardía hay una resistencia generalizada a la reinfección. Sin embargo, estudios serológicos realizados en Estados Unidos y en varios países asiáticos indican que la incidencia de la infección ha disminuido como resultado de mejoras en las condiciones sanitarias así como un aumento en el nivel de vida, junto con un uso más generalizado de la vacuna en algunos países. Se calcula que hasta 60 a 90% de los adultos jóvenes de ingresos medianos a altos en Estados Unidos son susceptibles a la hepatitis de tipo A.

La infección por HBV de un subtipo específico, por ejemplo, HBsAg/*adw*, parece conferir inmunidad contra otros subtipos de HBsAg, tal vez por su especificidad de grupo *a* común. Los mecanismos inmunopatógenos que producen la persistencia viral y la lesión hepatocelular en la hepatitis de tipo B aún no se han dilucidado. Puesto que el virus no es citopático, se piensa que la lesión hepatocelular durante la enfermedad aguda representa un ataque inmunitario del hospedador contra los hepatocitos infectados por HBV.

Se ha propuesto que las respuestas del hospedador, tanto inmunitarias como genéticas, contribuyen a la frecuencia de la cronicidad de HBV en pacientes infectados durante la lactancia. Casi 95% de los recién nacidos infectados al nacer se vuelven portadores crónicos del virus, a menudo de por vida (cuadro 35-6). Este riesgo disminuye en forma constante con el tiempo, de manera que el riesgo de que adultos infectados se vuelvan portadores disminuye a 10%. Es muy posible que el carcinoma hepatocelular se presente en adultos que experimentan infección por HBV en una edad muy temprana y se vuelven portadores. Por tanto, para que la vacunación tenga una eficacia máxima contra el estado de portador, la cirrosis y el hepatoma, se debe llevar a cabo en la primera semana de vida.

Los genotipos de HCV 1-4 son los tipos predominantes que circulan en los países occidentales y manifiestan algunas características diferenciales. El genotipo 1 predomina en Norteamérica, Japón y Europa occidental. Muestran la respuesta más deficiente al tratamiento con interferón y pueden tener un efecto más nocivo sobre la evolución del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) de tipo 1 que otros genotipos de HCV. En cambio, el HCV de genotipo 2 responde mejor a los tratamientos a base de interferón. El genotipo 3 muestra la tasa más elevada de eliminación espontánea en tanto que el genotipo 4 al parecer tiene la máxima frecuencia de los que producen infección crónica después de la infección aguda.

Se sabe poco sobre las respuestas inmunitarias del hospedador a HCV. La mayor parte de las infecciones agudas son asintomáticas o leves y las infecciones crónicas suelen evolucionar con lentitud y de manera insidiosa. Al parecer la respuesta inmunitaria es lenta en desarrollarse y relativamente débil, lo que refleja el hecho de que HCV tiene mecanismos de evasión inmunitaria muy eficaces.

Epidemiología

La figura 35-11 muestra las distribuciones globales de las infecciones por hepatitis A, B y C. Hay notables diferencias en las características epidemiológicas de estas infecciones (cuadro 35-4).

En la actualidad, en Estados Unidos el riesgo de que estos virus se transmitan por transfusión está muy reducido y es resultado de mejoría en las pruebas de detección sistemática y del establecimiento de poblaciones de donadores voluntarios. En 1996 se calculaba que el riesgo de transmisión de HBV mediante transfusión sanguínea era 1:63 000 y para HCV 1:103 000.

A. Hepatitis A

El HAV prevalece en todo el mundo. Los brotes epidémicos de hepatitis A son comunes en familias e instituciones, campos de verano, guarderías, unidades de cuidados intensivos neonatales y en tropas militares. El mecanismo de transmisión más probable en estas condiciones es la vía fecal-oral a través del contacto persona a persona estrecho. Las muestras de heces pueden ser contagiosas hasta dos semanas antes a dos semanas después del inicio de la ictericia. En condiciones sanitarias deficientes y de hacinamiento las infecciones por HAV se presentan en una edad temprana; en estas circunstancias la mayoría de los niños se vuelve inmune hacia los 10 años de edad. La enfermedad clínica es poco común en lactantes y niños; la enfermedad se manifiesta muy a menudo en niños y en adolescentes y las tasas más elevadas ocurren entre los cinco y 14 años de edad. La proporción de casos anictéricos a ictéricos en los adultos es de casi 1:3; en los niños, puede ser de hasta 12:1. Sin embargo, la excreción fecal del antígeno y RNA de HAV persiste por más tiempo en jóvenes que en adultos.

La epidemia recidivante es una característica sobresaliente. Las epidemias explosivas súbitas de hepatitis de tipo A por lo general se deben a la contaminación fecal de una sola fuente (p. ej., agua potable, alimento o leche). El consumo de ostiones crudos o de almejas no cocidas en forma apropiada y obtenidas de agua contaminada con residuos también ha producido varios brotes epidémicos de hepatitis. El brote más extenso de este tipo ocurrió en Shanghai en 1988, cuando más de 300 000 casos de hepatitis A se atribuyeron a almejas no cocidas procedentes de aguas contaminadas. En Estados Unidos, en 1997 el origen de un brote epidémico transmitido por los alimentos en múltiples estados fue detectado en fresas congeladas.

Otras fuentes identificadas de infección potencial son los primates no humanos. Ha habido más de 35 brotes epidémicos en los cuales los primates, por lo general chimpancés, han infectado a seres humanos que tienen contacto estrecho con estos animales.

El HAV pocas veces es transmitido por el empleo de agujas y jeringas contaminadas o a través de la administración de sangre.



FIGURA 35-11 Distribución global de los virus de la hepatitis que produjeron enfermedad humana en 2001. **A:** Virus de la hepatitis A. **B:** Virus de la hepatitis B. **C:** Virus de la hepatitis C. (Fuente: Organización Mundial de la Salud, 2001.) (*Continúa*)

La hepatitis A relacionada con transfusiones es poco común porque la etapa virémica de la infección ocurre durante la fase prodrómica y tiene una duración breve, los títulos de anticuerpos del virus en sangre son bajos y no hay un estado de portador. Sin embargo, en un informe de 1996 se documentó la transmisión de HAV a hemofílicos a través de concentraciones de factores de la coagulación. Hay escasas pruebas de la transmisión del HAV por la exposición a la orina o a las secreciones nasofaríngeas de pacientes infectados. La hemodiálisis no es importante en la diseminación de las infecciones por hepatitis A en los pacientes o en el personal.

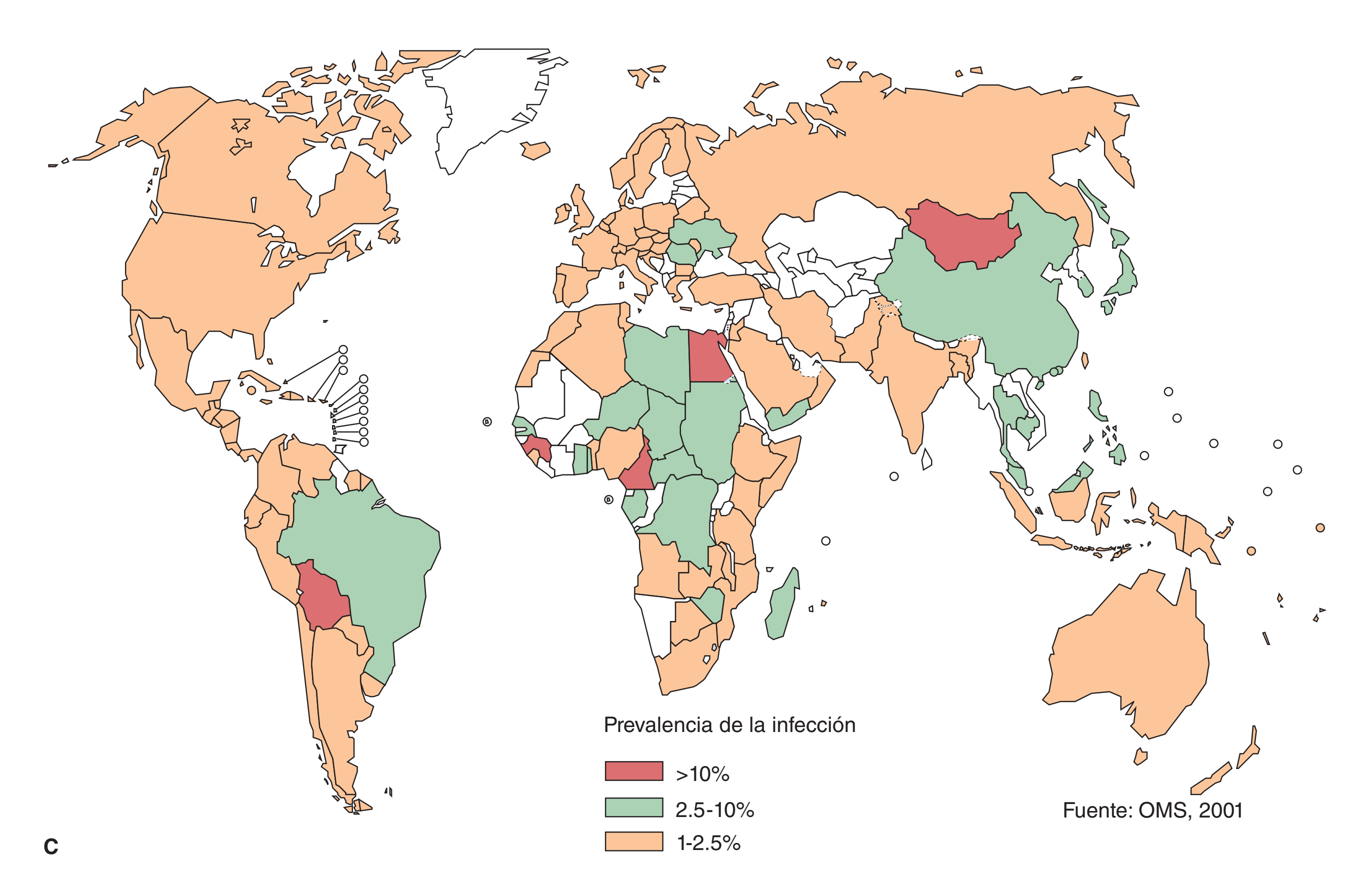


FIGURA 35-11 (*Continuación*) Distribución mundial de los virus de la hepatitis que produjeron enfermedad humana en 2001. **A:** Virus de la hepatitis A. **B:** Virus de la hepatitis B. **C:** Virus de la hepatitis C. (Fuente: Organización Mundial de la Salud, 2001.)

En Estados Unidos, en la época previa a la vacuna, se presentaban alrededor de 271 000 infecciones por año. Desde el advenimiento de las vacunas de la hepatitis A, las tasas de infección disminuyeron de manera espectacular a 3 500 casos en 2006.

Los grupos que tienen más riesgo de adquirir hepatitis A son personas de países desarrollados que viajan a países en vías de desarrollo, varones que tienen relaciones sexuales con varones, usuarios de drogas inyectables y no inyectables, individuos con trastornos de los factores de la coagulación y personal que trabaja con primates no humanos. Los pacientes con hepatopatía crónica tienen mayor riesgo de hepatitis fulminante si contraen una infección por hepatitis A. A estos grupos se les debe vacunar.

B. Hepatitis B

El HBV tiene una distribución mundial. Los mecanismos de transmisión y la respuesta a la infección son variables y dependen de la edad en que ocurre la infección (cuadro 35-6). La mayoría de las personas infectadas durante la lactancia presenta infecciones crónicas. En la edad adulta son susceptibles a enfermedades hepáticas y tienen un alto riesgo de desarrollar carcinoma hepatocelular. Hay más de 250 millones de portadores, de los cuales casi 1 millón vive en Estados Unidos; 25% de los portadores presentan hepatitis crónica activa. En todo el mundo, 1 millón de muertes al año se atribuyen a la hepatopatía relacionada con HBV y al carcinoma hepatocelular.

Los principales mecanismos de transmisión de HBV durante la lactancia son de una madre infectada a su recién nacido durante el parto y de un contacto doméstico infectado a un lactante.

No hay una tendencia estacional para la infección por HBV ni una predilección elevada para cualquier grupo de edad, aunque hay grupos de alto riesgo definidos como los usuarios de drogas parenterales, las personas internadas en centros sanitarios, personal sanitario, los pacientes que reciben múltiples transfusiones, los que reciben trasplantes de órganos, los enfermos en hemodiálisis y quienes los atienden, individuos muy promiscuos y lactantes recién nacidos de madres con hepatitis B. Desde que se instauró la detección sistemática obligatoria de donadores de sangre para HBsAg, se redujo de manera importante el número de casos de hepatitis relacionada con transfusiones. Se han infectado las personas por jeringas, agujas o bisturíes esterilizados en forma inadecuada o incluso por el tatuaje o la penetración de las orejas. Se ha comunicado que el cociente estimado de infecciones anictéricas a ictéricas es de hasta 4:1.

Existen otros mecanismos de transmisión de la hepatitis B. Se puede detectar HBsAg en saliva, lavados nasofaríngeos, semen, líquido menstrual y secreciones vaginales, lo mismo que en la sangre. Ocurre la transmisión de portadores a contactos estrechos por la vía oral o por la exposición sexual u otro contacto íntimo. Hay pruebas sólidas de la transmisión de personas con casos leves y portadores de HBsAg a parejas de homosexuales y heterosexuales a largo plazo. No se ha documentado la transmisión por la vía fecal-oral. Si se toma en cuenta que puede haber más de 1 000 millones de viriones por mililitro de sangre en un portador positivo para HBeAg y que el virus es resistente al desecamiento, no es de sorprender que todos los líquidos corporales de los pacientes infectados por HBV puedan ser contagiosos. Las infecciones leves son frecuentes y estas infecciones no reconocidas representan el principal riesgo para el personal intrahospitalario.

El personal sanitario (médicos y cirujanos dentales, patólogos, enfermeras, técnicos de laboratorio y personal de banco de sangre) tienen una frecuencia más elevada de hepatitis y una prevalencia de HBsAg o anticuerpos contra HBs detectable mayor que los que no tienen exposición laboral a los pacientes o a los hemoderivados. El riesgo que estos portadores de HBsAg aparentemente sanos (sobre todo médicos y cirujanos dentales) representan a los pacientes bajo su cuidado aún no se ha determinado pero probablemente es pequeño.

Las infecciones por hepatitis B son frecuentes en pacientes y personal de las unidades de hemodiálisis. Hasta 50% de los pacientes en diálisis renal que tienen contacto con hepatitis B puede volverse portador crónico de HBsAg en comparación con 2% del grupo de personal, lo que resalta las diferencias en la respuesta inmunitaria del hospedador. Los contactos familiares también tienen un riesgo más elevado.

El periodo de incubación de la hepatitis B es de 50 a 180 días con una media de 60 a 90 días. Al parecer varía según la dosis de HBV administrada y la vía de administración, prolongándose en los pacientes que reciben una dosis baja del virus o que son infectados por una vía no percutánea.

C. Hepatitis C

Las infecciones por HCV se propagan por todo el mundo. En 1997, la Organización Mundial de la Salud estimó que casi 3% de la población mundial se había infectado y los subgrupos de población en África tenían tasas de prevalencia de hasta 10%. En Sudamérica y en Asia se encuentran otras zonas de gran prevalencia. Se estima que hay más de 170 millones de portadores crónicos en todo el mundo que corren el riesgo de presentar cirrosis hepática, cáncer hepático, o ambos y que más de tres millones de ellos viven en Estados Unidos.

El HCV se transmite principalmente a través de la exposición percutánea directa a la sangre, aunque en 10 a 50% de los casos no se puede identificar la fuente de este virus. En orden de prevalencia de la infección más o menos decreciente están los usuarios de drogas inyectables (alrededor de 80%), los hemofílicos tratados con productos de factores de la coagulación antes de 1987, los receptores de transfusiones de donadores positivos para HCV, los pacientes en hemodiálisis crónica (10%), las personas que tienen prácticas sexuales de gran riesgo y el personal sanitario (1%). El virus se puede transmitir de la madre al lactante, aunque no con la misma frecuencia que el HBV. Las estimaciones de la transmisión vertical maternoinfantil varían de 3 a 10%. Las madres con densidades virales de HCV más altas o infección concomitante con VIH transmiten más a menudo el HCV. No se ha relacionado el riesgo de transmisión con la lactancia natural.

El HCV se detectó en la saliva de más de un tercio de pacientes con infecciones concomitantes por HCV y VIH; se ha transmitido a través de preparados comerciales de inmunoglobulina intravenosa, incluido un brote epidémico en Estados Unidos que ocurrió en 1994. La población de Egipto tiene una prevalencia de HCV elevada (alrededor de 20%). La transmisión se ha vinculado al intento (de la década de los 50 a la de los 80) de tratar la esquistosomiasis mediante múltiples inyecciones, a menudo con agujas esterilizadas de forma inadecuada o reutilizadas. La infección por HCV se relaciona con tatuajes y, en algunos países, con las prácticas de la medicina popular.

El periodo de incubación promedio para HCV es de seis a siete semanas. El tiempo promedio desde la exposición hasta la seroconversión es de ocho a nueve semanas y casi 90% de los pacientes son positivos para anticuerpos contra HCV en los primeros cinco meses.

D. Hepatitis D (virus delta)

El virus de la hepatitis D (HDV) se encuentra en todo el mundo pero con una distribución no uniforme. Su máxima prevalencia se ha comunicado en Italia, Medio Oriente, Asia Central, África Occidental y Sudamérica. El HDV infecta a todos los grupos de edad. Las personas que han recibido múltiples transfusiones, los toxicómanos de drogas intravenosas y sus contactos estrechos tienen un riesgo elevado.

Se considera que las vías primarias de transmisión son similares a las del HBV, aunque el HDV no parece ser una enfermedad de transmisión sexual. La infección depende de la replicación del HDV, pues éste proporciona una envoltura de HBsAg para HDV. El periodo de incubación varía de dos a 12 semanas y es más breve en portadores de HBV que presentan sobreinfección con la partícula delta que en personas susceptibles que se infectan en forma simultánea con HBV y HDV. Se ha transmitido HDV por vía perinatal, pero por suerte no es frecuente en regiones del mundo (como Asia) en las que la transmisión perinatal del HDV ocurre con frecuencia.

Se han identificado dos patrones epidemiológicos de infección delta. En los países mediterráneos, la infección delta es endémica en personas con hepatitis B y se piensa que la mayor parte de las infecciones son transmitidas por contacto sexual. En zonas no endémicas, como Estados Unidos y Europa del norte, la infección por delta se limita a las personas expuestas con frecuencia a la sangre y a hemoderivados, principalmente toxicómanos y hemofílicos.

La hepatitis delta puede presentarse en brotes epidémicos explosivos y afecta a grupos enteros de portadores de hepatitis B. Los brotes epidémicos de hepatitis delta grave, a menudo fulminante y crónica han ocurrido por decenios en poblaciones aisladas en las cuencas del Orinoco y el Amazonas en Sudamérica. En Estados Unidos, se ha observado que el HDV participa en 20 a 30% de los casos de hepatitis B crónica, exacerbaciones agudas de hepatitis D crónica y hepatitis B fulminante, así como en 3 a 12% de donadores de sangre con HBsAg en el suero tienen anticuerpos contra el HDV. La hepatitis delta no es una enfermedad nueva; algunos lotes de globulina preparados de plasma obtenido en Estados Unidos hace más de 40 años contienen anticuerpos contra HDV.

Tratamiento

El tratamiento de los pacientes con hepatitis es de sostén y se dirige a permitir la resolución y la reparación del daño hepatocelular por sí mismo. Sólo el HBV y el HCV tienen tratamientos específicos, pero sólo con eficacia parcial.

El interferón α recombinante y el interferón α pegilado constituyen en la actualidad un tratamiento beneficioso en los pacientes con infección crónica por HBV o HCV. Muchos que responden de manera clínica y bioquímica experimentan recaídas después de suspender el tratamiento. Sólo alrededor de 35% de los pacientes con infecciones por HBV crónicas tienen

remisiones duraderas y alrededor de 25% de los que padecen una infección crónica por HCV tienen una respuesta sostenida. El tratamiento a base de interferón se acompaña de muchos efectos secundarios.

Se dispone de varios fármacos antivirales para utilizarse contra las infecciones por hepatitis crónica. Con los análogos nucleósidos y nucleótidos, como la lamivudina (cuadro 30-6), se encuentran reducidas las concentraciones de DNA de HBV, pero el virus pocas veces se elimina y la replicación viral resurge en la mayoría de los pacientes cuando se suspende el tratamiento. El surgimiento de mutantes de virus resistentes a los fármacos en el tratamiento a largo plazo constituye un problema importante. La politerapia con interferón α y la ribavirina contra la hepatitis C crónica produce una tasa de respuesta sostenida de hasta 50%, aunque el tratamiento es menos satisfactorio en pacientes con genotipo 1.

El trasplante hepático ortotópico es un tratamiento para la hepatitis B y C crónicas y la lesión hepática en etapa terminal. Sin embargo, el riesgo de reinfección del injerto es de un mínimo de 80% en el caso de HBV y de 50% en el caso de HCV, probablemente por los reservorios extrahepáticos en el organismo.

Prevención y control

Se dispone de vacunas antivirales y de preparados de inmunoglobulina protectora contra el HAV y el HBV. Actualmente no se encuentra disponible ningún tipo de reactivo para prevenir las infecciones por HCV.

A. Precauciones utilizadas con frecuencia

Los procedimientos ambientales simples permiten limitar el riesgo de la infección en el personal sanitario, el personal de laboratorio y otros más. De acuerdo con este enfoque, toda la sangre y los líquidos corporales y materiales contaminados por ellos se tratan como si fueran infecciosos para VIH, HBV, HCV y otros microorganismos patógenos transmitidos en la sangre. Las exposiciones que hacen que el personal corra el riesgo de infección son las lesiones percutáneas (p. ej., por punciones con aguja) o el contacto de la mucosa o la piel no intacta (p. ej., agrietada, con heridas o con dermatitis) con sangre, tejido u otros líquidos corporales que pueden ser infecciosos. Los métodos están concebidos para prevenir el contacto con tales muestras. Ejemplos de precauciones específicas son los siguientes: se deben utilizar guantes al manejar todos los materiales potencialmente infecciosos; se deben usar prendas protectoras y retirarse antes de abandonar la zona de trabajo; se debe usar mascarillas y protección ocular siempre que las salpicaduras o gotitas de material infeccioso planteen un riesgo; sólo se deben utilizar agujas desechables; es necesario descartar las agujas directamente en recipientes especiales sin envolverlas de nuevo; las superficies de trabajo deben descontaminarse utilizando una solución blanqueadora; y el personal de laboratorio ha de contenerse de pipetear con la boca, comer, beber y fumar en el área de trabajo. Los objetos e instrumentos metálicos se pueden desinfectar mediante su colocación en autoclave o por la exposición al gas de óxido de etileno.

B. Hepatitis A

En 1995 se autorizaron en Estados Unidos las vacunas del HAV inactivadas en formalina, elaboradas a partir de virus adaptados de cultivos celulares. Las vacunas son tolerables, eficaces y se recomiendan para uso en personas de más de un año de edad.

En la actualidad se recomienda la vacunación sistemática de todos los niños y de personas con un mayor riesgo, como viajeros internacionales, varones que tienen relaciones sexuales con varones y usuarios de drogas.

Hasta que todos los grupos con riesgo susceptibles estén inmunizados, para la prevención y el control de la hepatitis A todavía se debe hacer hincapié en interrumpir la cadena de transmisión y utilizar la inmunización pasiva.

La aparición de la hepatitis en campos universitarios o instituciones a menudo constituye un indicador de condiciones sanitarias deficientes y de higiene insatisfactoria del personal. Las medidas de control se dirigen a la prevención de la contaminación fecal del alimento, agua u otras fuentes por el individuo. Es esencial la higiene adecuada, como lavado de manos, el uso de platos desechables y de utensilios para comer, así como el empleo de hipoclorito de sodio al 0.5% (p. ej., dilución de blanqueador de cloro a 1:10) como desinfectante, para prevenir la propagación de HAV durante la fase aguda de la enfermedad.

La inmuno (γ) globulina (IG) se prepara a partir de grandes concentrados de plasma de adulto normal y confiere una protección pasiva en casi 90% de las personas expuestas cuando la reciben en la primera o segunda semanas después de la exposición a la hepatitis A. Su utilidad profiláctica disminuye con el tiempo y no hay indicaciones para su administración dos semanas después de la exposición o después de la aparición de los síntomas clínicos. En las dosis generalmente prescritas, la inmunoglobulina no evita la infección sino más bien vuelve la infección leve o asintomática y permite la aparición de inmunidad activa. La vacuna contra HAV produce inmunidad más duradera y debe remplazar al empleo de IG.

C. Hepatitis B

Desde 1982 se dispone de una vacuna contra la hepatitis B. La vacuna inicial fue preparada mediante la purificación de HBsAg asociado a partículas de 22 nm de portadores sanos positivos para HBsAg y el tratamiento de las partículas con compuestos inactivadores del virus (formalina, urea, calor). Los preparados que contienen partículas intactas de 22 nm han sido muy eficaces para reducir la infección por HBV. Aunque en algunos países todavía se utilizan las vacunas derivadas de plasma, en Estados Unidos se han remplazado por vacunas derivadas de DNA recombinante; consisten en HBsAg producido por un DNA recombinante de células de levadura o de linajes continuos de células de mamíferos. El HBsAg expresado en la levadura forma partículas de 15 a 30 nm de diámetro con las características morfológicas del antígeno de superficie libre en el plasma, aunque el antígeno polipeptídico producido por la levadura recombinante no es glucosilado. La vacuna formulada utilizando este material purificado tiene una potencia similar a la de la vacuna elaborada a partir de antígeno derivado de plasma.

La Organización Mundial de la Salud, los *Centers for Disease Control and Prevention* y el *Advisory Committee on Immunization Practices* recomiendan la profilaxis para todos los grupos susceptibles con alto riesgo después de la exposición, con una vacuna contra la hepatitis B comercializada actualmente. En Estados Unidos, se recomienda la vacuna contra HBV en todos los niños como parte de su esquema de inmunización regular.

La vacunación contra la hepatitis B es la medida más eficaz para prevenir la infección por HBV y sus consecuencias. Existe

una estrategia de salud pública integral para eliminar la transmisión de HBV en Estados Unidos. Consiste en la vacunación general de lactantes y la detección sistemática de todas las mujeres embarazadas para HBsAg, la inmunoprofilaxis después de la exposición de lactantes nacidos de madres positivas para HBsAg, la vacunación de niños y adolescentes no vacunados con anterioridad y la vacunación de adultos no vacunados que tienen un mayor riesgo de infección.

Los grupos de pacientes inmunodeprimidos, como los que reciben hemodiálisis o quimioterapia antineoplásica o que están infectados con VIH, responden a la vacunación con menos eficacia que las personas sanas. Los estudios sobre inmunización pasiva utilizando inmunoglobulina de la hepatitis B (HBIG, *hepatitis B immune globulin*) han demostrado un efecto protector si se administra poco después de la exposición. No se recomienda HBIG para la profilaxis después de la exposición pues se dispone de la vacuna contra HBV y es eficaz. Las personas expuestas a HBV por vía percutánea o por la contaminación de superficies de la mucosa deben recibir de inmediato HBIG y la vacuna contra HBsAg administradas de manera simultánea en dos zonas diferentes para lograr una protección inmediata contra los anticuerpos adquiridos en forma pasiva seguida de la inmunidad activa generada por la vacuna.

En Estados Unidos no se ha documentado que la inmunoglobulina aislada del plasma mediante el método de fraccionamiento de etanol en frío transmita HBV, HAV, HCV o VIH. Las inmunoglobulinas preparadas fuera de Estados Unidos por otros métodos han sido implicadas en los brotes epidémicos de hepatitis B y C.

Las mujeres que son portadoras del HBV o que contraen la hepatitis de tipo B durante el embarazo pueden transmitir la enfermedad a sus lactantes. Se ha corroborado la eficacia de la vacuna contra la hepatitis y de HBIG en la prevención de la hepatitis B en lactantes nacidos de madres positivas para HBV. La reducción del costo de la vacuna para los programas de salud pública ha vuelto factible la vacunación de recién nacidos en zonas muy endémicas. El elevado costo de la HBIG impide su uso casi en todos los países.

Los pacientes con hepatitis B aguda por lo general no necesitan aislarse, siempre y cuando se observen estrictamente las precauciones en el manejo de la sangre y los instrumentos, tanto en las áreas de asistencia clínica general como en los laboratorios de análisis. Puesto que los cónyuges y las parejas sexuales de personas con este trastorno corren el riesgo de adquirir hepatitis B de tipo clínico, deben informarse sobre los procedimientos que podrían incrementar el riesgo de infección o transmisión. No hay pruebas indicativas de que quienes manejan los alimentos portadores de HBsAg y asintomáticos planteen un riesgo sanitario para el público en general.

D. Hepatitis C

No se dispone de ninguna vacuna contra la hepatitis C aunque se están realizando pruebas para varias vacunas elegibles. Las medidas de control se enfocan en las actividades de prevención que reducen los riesgos de contraer el HCV; éstas comprenden detección sistemática y pruebas en donadores de sangre, plasma, órganos, tejidos y semen; inactivación viral de productos derivados del plasma; asesoría de personas con prácticas sexuales o toxicomanías de alto riesgo; implementación de procedimientos de control de la infección en la asistencia sanitaria y en otros contextos; y la información a los profesionales y al público.

E. Hepatitis D

La hepatitis delta puede prevenirse mediante la vacunación de las personas susceptibles a la vacuna contra la hepatitis B. Sin embargo, la vacunación no protege a los portadores de hepatitis B de la sobreinfección por HDV.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. En la ciudad de Nueva York una mujer de 24 años de edad es hospitalizada a causa de ictericia. Al realizar su estudio diagnóstico se encontró que tiene una infección por HCV. El principal factor de riesgo para la infección por HCV en Estados Unidos es
   (A) Tatuajes
   (B) Uso de drogas inyectables
   (C) Transfusiones sanguíneas
   (D) Actividad sexual
   (E) Trabajo en ocupaciones relacionadas en la asistencia sanitaria
2. ¿Cuál de las siguientes exposiciones plantea un riesgo para la infección por hepatitis?
   (A) Una enfermera sufre una punción con una aguja mientras retiraba insulina para administrar a un paciente diabético infectado con HBV
   (B) Un ama de casa tiene contacto de la piel con las heces mientras limpia el retrete
   (C) Un técnico de quirófano con las manos agrietadas y con abrasión observa sangre bajo sus guantes después de ayudar en una operación en un paciente con una infección por HCV
   (D) Un niño bebe de la misma taza que su madre, quien tiene una infección por HAV
   (E) Un tendero come un emparedado preparado por un trabajador con una infección por HBV asintomática
3. En Nueva Delhi ocurrió una epidemia de ictericia causada por HEV. El HEV
   (A) Se encuentra en roedores y cerdos
   (B) Es una causa principal de hepatitis transmitida por la sangre
   (C) Es la causa de una enfermedad que se parece a la hepatitis C
   (D) Puede establecer infecciones crónicas
   (E) Conlleva un aumento del riesgo de cáncer hepático
4. El HDV (agente delta) se encuentra sólo en los pacientes que tienen infección aguda o crónica por HBV. El HDV
   (A) Es un mutante defectuoso de HBV
   (B) Depende del antígeno de superficie de HBV para la formación de viriones
   (C) Desencadena una respuesta inmunitaria que no es diferenciable de la provocada por HBV
   (D) Está relacionado con HCV
   (E) Contiene un genoma de DNA circular
5. Una mujer de 23 años de edad está pensando realizar un viaje de un año por toda Europa, Egipto y el subcontinente indio y recibe una vacuna contra la hepatitis A. La vacuna actual contra la hepatitis A es
   (A) Una vacuna de virus vivos atenuados
   (B) Una vacuna de DNA recombinante
   (C) Una vacuna de virus inactivado con formalina
   (D) Una vacuna de subunidad de glucoproteína de envoltura
   (E) Un poliovirus quimérico que expresa epitopos neutralizantes de HBV
6. Las siguientes aseveraciones sobre la infección por HCV y la hepatopatía crónica relacionada en Estados Unidos son correctas excepto que
   (A) HCV es causa de 40% de los casos de hepatitis crónica
   (B) La infección crónica sobreviene en la mayoría de las personas infectadas por HCV (70 a 90%)

(C) La enfermedad hepática relacionada con HCV es la principal causa de trasplante hepático
(D) La viremia por HCV ocurre transitoriamente durante las primeras etapas de la infección
(E) Los pacientes infectados por HCV tienen un riesgo elevado (5 a 20%) de cáncer hepático

7. Un varón de mediana edad se queja de fiebre de instauración aguda, náusea y dolor en el hipocondrio derecho. Se había observado ictericia y orina oscura varios días antes. Un análisis de laboratorio fue positivo para anticuerpos IgM contra HAV. El médico puede decirle al paciente que
(A) Probablemente adquirió la infección de una transfusión sanguínea reciente
(B) Probablemente presentará hepatitis crónica
(C) Tendrá un riesgo elevado de presentar carcinoma hepatocelular
(D) Será resistente a la infección por hepatitis E
(E) Puede transmitir la infección a familiares por la diseminación interpersonal hasta por dos semanas

8. Diversos virus diferentes pueden causar hepatitis. Una de las siguientes afirmaciones es aplicable a los cuatro virus: HAV, HCV, HDV y HEV
(A) Contiene un genoma de RNA monocatenario
(B) Es transmitido principalmente por la vía parenteral
(C) Es transmitido principalmente por la vía fecal-oral
(D) Se relaciona con la hepatitis fulminante
(E) Experimenta una variación secuencial durante la infección crónica

9. Un estudiante de 30 años de edad acude al servicio de urgencias a causa de fiebre y anorexia durante los últimos tres días. Al parecer presenta ictericia y hepatomegalia dolorosa. Un análisis de laboratorio muestra elevación de las aminotransferasas. La paciente refiere antecedente de haber recibido vacuna contra la hepatitis B dos años antes pero no había recibido la vacuna contra la hepatitis A. Los resultados de sus análisis serológicos para la hepatitis son los siguientes: negatividad de anticuerpos IgM contra HAV, positividad para IgG contra HAV, negatividad para HBsAg, positividad para anticuerpos contra HBs, negatividad para anticuerpos contra HBc, negatividad para anticuerpos contra HCV y positividad para anticuerpos contra HCV. La conclusión más exacta es que probablemente
(A) Tiene ahora hepatitis A, no se ha infectado con HBV y tenía antes hepatitis C
(B) Tiene hepatitis A ahora y se ha infectado con HBV y HCV en el pasado
(C) Se ha infectado con HAV y HCV en el pasado y ahora tiene hepatitis B
(D) Se ha infectado con HAV en el pasado, no se ha infectado con HBV y tiene ahora hepatitis C
(E) Se ha infectado con HAV y HCV en el pasado, no se ha infectado con HBV y tiene ahora hepatitis E

10. Una enfermera de 36 años resulta positiva para HBsAg y positiva para HBeAg. La enfermera muy probablemente
(A) Tiene hepatitis aguda y puede infectar a otras personas
(B) Tiene infecciones por HBV y HEV
(C) Tiene una infección crónica por HBV
(D) Ha eliminado una infección previa por HBV
(E) Fue inmunizada previamente con la vacuna contra HBV preparada de portadores sanos positivos para HBsAg

11. Las siguientes personas tienen un riesgo más alto de infección por HAV y deben vacunarse de manera sistemática, excepto:
(A) Personas que viajan o que trabajan en países que tienen alta morbilidad de infección por HAV
(B) Varones que tienen relaciones sexuales con varones
(C) Usuarios de drogas ilícitas (tanto inyectables como no inyectables)
(D) Personas que tienen un riesgo laboral de infección
(E) Personas que tienen un trastorno de factor de la coagulación
(F) Personas susceptibles que tienen hepatopatía crónica
(G) Maestros de escuelas primarias

12. Hay una variación global en la prevalencia de la infección por HBV. ¿Cuál de las siguientes zonas geográficas tiene bajo nivel endémico (prevalencia de HBsAg <2%)?
(A) Sureste de Asia
(B) Las islas del Pacífico
(C) Europa Oriental
(D) Australia
(E) África subsahariana

13. ¿En cuáles de las siguientes personas no se recomienda la vacuna contra la hepatitis B porque tienen un factor de riesgo para infección por HBV?
(A) Personas sexualmente activas que a largo plazo no tienen una relación mutuamente monogámica
(B) Usuarios de drogas inyectables
(C) Mujeres embarazadas
(D) Personas que viven en una casa con una persona que es positiva para HBsAg
(E) Personas que buscan tratamiento de una enfermedad de transmisión sexual

14. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones con respecto a HBIG no es correcta?
(A) HBIG proporciona protección temporal cuando se administra en dosis usuales
(B) HBIG suele utilizarse en vez de la vacuna contra la hepatitis B para la inmunoprofilaxis después de la exposición a fin de prevenir la infección por HBV
(C) No existen pruebas de que HBV, HCV o VIH alguna vez se hayan transmitido a través de la HBIG en Estados Unidos
(D) No se utiliza HBIG como protección contra la infección por HCV

Respuestas

1. B	5. C	9. D	13. C
2. C	6. D	10. A	14. B
3. A	7. E	11. G	
4. B	8. A	12. D	

BIBLIOGRAFÍA

A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Part II: Immunization of adults. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2006;55(RR-16).

Advisory Committee on Immunization Practices: A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2005;54(RR-16).

Advisory Committee on Immunization Practices: Prevention of hepatitis A through active or passive immunization. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2006;55(RR-7).

Emerson SU, Purcell RH: Hepatitis E virus. In: *Fields Virology*, 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott, Williams & Wilkins, 2007.

Hollinger FB, Emerson SU: Hepatitis A virus. In: *Fields Virology*, 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Lemon SM, Walker C, Alter MJ, Yi M: Hepatitis C virus. In: *Fields Virology*, 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott, Williams & Wilkins, 2007.

Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1998;47(RR-19).

Seeger C, Zoulim F, Mason WS: Hepadnaviruses. In: *Fields Virology*, 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott, Williams & Wilkins, 2007.

Taylor JM, Farci P, Purcell RH: Hepatitis D (delta) virus. In: *Fields Virology*, 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott, Williams & Wilkins, 2007.

Updated U.S. Public Health Service guidelines for the management of occupational exposures to HBV, HCV, and HIV and recommendations for postexposure prophylaxis. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2001;50(RR-11).

Weinbaum C, Lyerla R, Margolis HS: Prevention and control of infections with hepatitis viruses in correctional settings. MMWR Recomm Rep 2003;52(RR-1):1.

Weiss U: Insight: Hepatitis C. Nature 2005;436:929-978.



CAPÍTULO

36

Picornavirus (grupos de enterovirus y rinovirus)

Los picornavirus representan una familia de virus muy extensa con respecto al número de miembros pero uno de los más pequeños en términos del tamaño del virión y de la complejidad genética. Comprenden dos grupos principales de microorganismos patógenos: **enterovirus** y **rinovirus**. Los enterovirus son residentes transitorios del tubo digestivo humano y pueden aislarse de la faringe o del colon. Los rinovirus se aíslan principalmente de la nariz y la faringe.

Muchos picornavirus producen enfermedades en el ser humano que varían desde parálisis grave hasta meningitis aséptica, pleurodinia, miocarditis, lesiones vesiculares y exantemáticas de la piel, lesiones mucocutáneas, enfermedades respiratorias, enfermedades febriles indiferenciadas, conjuntivitis y enfermedad grave generalizada de los lactantes. Sin embargo, la infección leve es mucho más frecuente que la enfermedad clínicamente manifiesta. Es difícil establecer la causa, pues diferentes virus pueden producir el mismo síndrome, los mismos picornavirus pueden causar más de un solo síndrome; y algunos síntomas no se pueden distinguir de los causados por otros tipos de virus. La enfermedad más importante causada por cualquier enterovirus es la poliomielitis.

En todo el mundo se está haciendo lo posible por lograr la meta de la erradicación total de la poliomielitis.

PROPIEDADES DE LOS PICORNAVIRUS

En el cuadro 36-1 se muestran propiedades importantes de los picornavirus.

Estructura y composición

El virión de enterovirus y de rinovirus consta de una capa de cápside de 60 subunidades y cada una de las cuatro proteínas (VP1 a VP4) están dispuestas con una simetría icosaédrica en torno a un genoma constituido por una sola tira de RNA de polaridad positiva (fig. 36-1). Los parechovirus son similares excepto que sus cápsides contienen sólo tres proteínas, ya que VP0 no es desdoblada en VP2 y VP4.

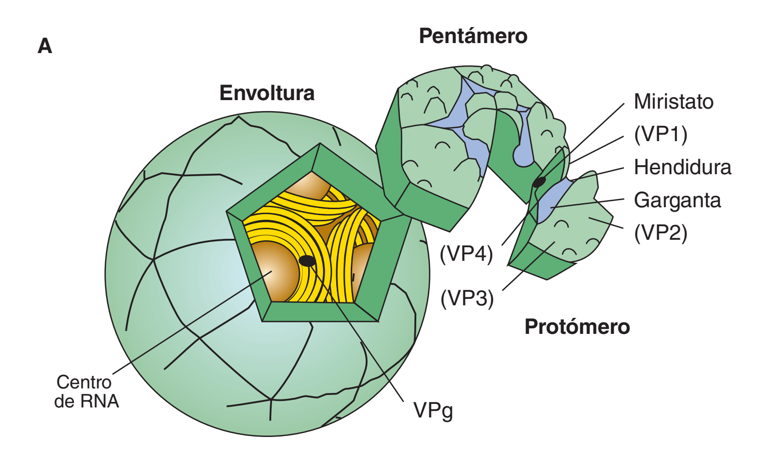
Por medio de los estudios de difracción de rayos X se han determinado las estructuras moleculares de los poliovirus y los rinovirus. Las tres proteínas virales más grandes, VP1 a VP3, tienen una estructura central muy similar, en la cual el esqueleto peptídico de proteína forma un asa sobre sí mismo y da origen a un barril de ocho tiras que se mantienen unidas mediante enlaces de hidrógeno (el barril β). Las cadenas de aminoácidos entre el barril β y los grupos amino-terminal y carboxilo-terminal de la proteína contienen una serie de asas. Éstas constituyen los principales sitios antigénicos que se hallan en la superficie del virión y que intervienen en la neutralización de la infección viral.

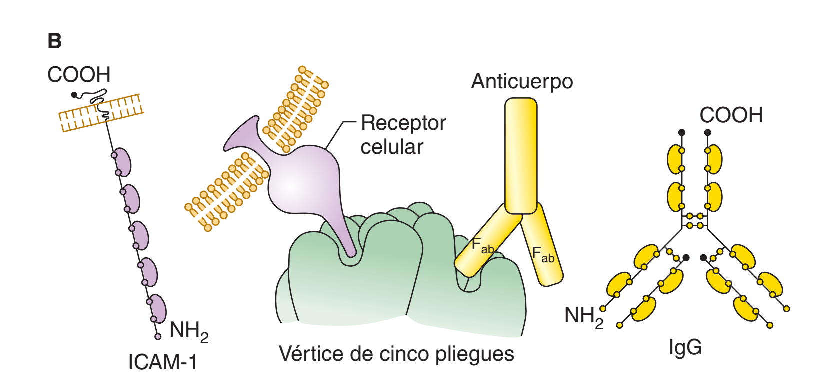
Hay una hendidura o garganta prominente alrededor de cada vértice pentamérico presente en la superficie de la partícula viral. El lugar de unión al receptor utilizado para adherir el virión a la célula hospedadora se considera que está cerca de la base de la hendidura. Esta ubicación supuestamente protege el lugar crucial de la unión celular de la variación estructural influida por la selección de anticuerpos en los hospedadores, ya que la hendidura es demasiado estrecha para permitir la penetración profunda de las moléculas de anticuerpos (fig. 36-1).

El RNA del genoma tiene un tamaño que varía de 7.2 kb (rinovirus humano) a 7.4 kb (poliovirus, virus de la hepatitis A) hasta 8.4 kb (aftovirus). La organización del genoma es similar para todos (fig. 36-2). El genoma es poliadenilado en el extremo 3′ y tiene una proteína codificada viral pequeña (VPg) unida en forma covalente al extremo 5′. El RNA genómico de polaridad positiva es infeccioso.

CUADRO 36-1 Propiedades importantes de los picornavirus

Virión: Icosaédrico, 28 a 30 nm de diámetro, contiene 60 subunidades
Composición: RNA (30%), proteína (70%)
Genoma: RNA monocatenario, lineal, de polaridad positiva, 7.2 a 8.4 kb de tamaño, peso molecular de 2.5 millones, infeccioso, contiene proteína ligada al genoma (VPg)
Proteínas: Cuatro polipéptidos principales desdoblados a partir de una poliproteína precursora de gran tamaño. Las proteínas de la cápside de la superficie VP1 y VP3 son zonas de unión a anticuerpo importantes. VP4 es una proteína interna
Envoltura: Ninguna
Replicación: Citoplasma
Característica sobresaliente: La familia está constituida por muchos tipos de enterovirus y rinovirus que infectan al ser humano y a los animales inferiores, causando diversas enfermedades que van desde la poliomielitis hasta la meningitis aséptica y el resfriado común





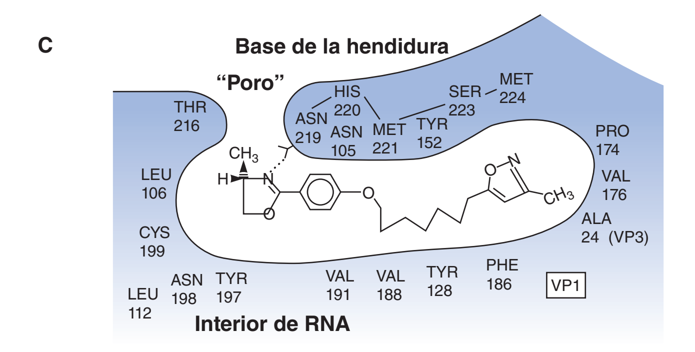


FIGURA 36-1 Estructura de un picornavirus típico. **A:** Esquema explotado que muestra la ubicación interna del genoma de RNA rodeado por una cápside que consta de pentámeros de proteínas VP1, VP2, VP3 y VP4. Obsérvese la depresión "garganta" que rodea al vértice del pentámero. **B:** Unión del receptor celular a la base de la hendidura. El receptor de rinovirus principal (molécula ICAM-1) tiene un diámetro de aproximadamente la mitad de una molécula de anticuerpo IgG. **C:** Ubicación de un lugar de fijación del fármaco en VP1 de un rinovirus. El antiviral que se muestra, WIN 52084, impide la unión viral al deformar parte de la base de la hendidura. (Reproducida con autorización de Rueckert RR: Picornaviridae: The viruses and their replication. En: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

Los enterovirus se mantienen estables en un pH ácido (3.0 a 5.0) durante 1 a 3 h, en tanto que los rinovirus son acidolábiles. Los enterovirus y algunos rinovirus se estabilizan con cloruro de magnesio contra la inactivación térmica. Los enterovirus tienen una densidad de flotación en cloruro de cesio de casi 1.34 g/ml; los rinovirus humanos, alrededor de 1.4 g/ml.

Clasificación

La familia **Picornaviridae** contiene nueve géneros, entre ellos, *Enterovirus* (enterovirus), *Rhinovirus* (rinovirus), *Hepatovirus* (virus de la hepatitis A), *Parechovirus* (parechovirus), *Aphthovirus* (virus de la fiebre aftosa) y *Cardiovirus* (cardiovirus). Los primeros cuatro grupos contienen microorganismos patógenos humanos importantes.

Los enterovirus de origen humano se clasifican en seis especies con base principalmente en los análisis de secuencia. La taxonomía previa para este virus comprendía lo siguiente: 1) poliovirus, tipos 1 a 3; 2) coxsackievirus del grupo A, tipos 1 a 24 (no hay tipo 23); 3) coxsackievirus del grupo B, tipos 1 a 6; 4) virus ECHO tipos 1 a 33 (no existen los tipos 8, 10, 22, 23, 28 o 34), y 5) enterovirus, tipos 68 a 78 (no hay tipo 72). (Cua-

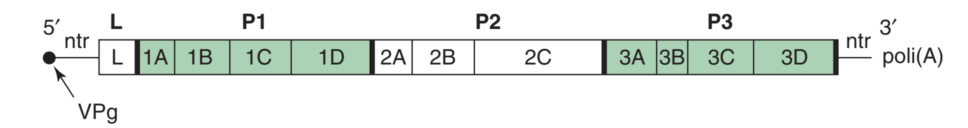


FIGURA 36-2 Estructura del RNA de un picornavirus y organización genética de su poliproteína (barra abierta). El RNA es 5′-VPg-ntr-poliproteína-ntr-poli(A) organizado. ntr designa las regiones no traducidas que flanquean a la poliproteína. L especifica una proteína directriz que se detecta en cardiovirus y aftovirus pero no en enterovirus, rinovirus humanos o virus de la hepatitis A humana. P1, P2 y P3 designan las proteínas precursoras desdobladas por las proteinasas codificadas por virus en cuatro, tres, y cuatro productos terminales, respectivamente. (Reproducida con autorización de Rueckert RR: Picornaviridae: The viruses and their replication. En: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

dro 36-2.) Se han identificado tentativamente enterovirus adicionales de tipos 79 a 101. Desde 1969, se han asignado nuevos números de tipo a enterovirus en vez de subclasificarlos como coxsackievirus o virus ECHO. Se han retenido los nombres originales de los enterovirus previamente identificados. Los virus coxsackie A corresponden principalmente a la especie de los enterovirus humanos (HEV)-A y HEV-C y los virus coxsackie B y los virus ECHO a la HEV-B.

Los enterovirus también existen en muchos animales, incluidos ganado vacuno, cerdos, monos y ratones.

Los rinovirus humanos comprenden más de 100 tipos antigénicos. Los rinovirus de otras especies de hospedador comprenden los de caballo y los del ganado vacuno.

El virus de la hepatitis A fue clasificado originalmente como enterovirus de tipo 72 pero ahora está asignado a un género diferente. Se describe en el capítulo 35.

Los parechovirus, previamente clasificados como virus ECHO 22 y 23, resultaron significativamente diferentes de los enterovirus tanto en las propiedades biológicas como en las características moleculares y se ubicaron en un nuevo género (*Parechovirus*).

Otros picornavirus son el virus de la fiebre aftosa del ganado (*Aphthovirus*) y el virus de la encefalomiocarditis de los roedores (*Cardiovirus*).

La amplia gama de picornavirus varía bastante de un tipo al siguiente e incluso entre las cepas del mismo tipo. Muchos enterovirus (poliovirus, virus ECHO y algunos coxsackievirus) pueden cultivarse a una temperatura de 37°C en células humanas y de mono; la mayor parte de las cepas de rinovirus se puede aislar sólo en células humanas a una temperatura de 33°C. Los coxsackievirus son patógenos para los ratones recién nacidos.

Replicación de picornavirus

El ciclo de replicación de picornavirus ocurre en el citoplasma de las células (fig. 36-3). En primer lugar, el virión se adhiere a un receptor específico en la membrana plasmática. Los receptores de poliovirus y de rinovirus humanos son miembros de la superfamilia del gen de la inmunoglobulina, que comprende anticuerpos y algunas moléculas de adhesión a la superficie celular. En cambio, los virus ECHO reconocen un miembro de la

CUADRO 36-2 Características de los picornavirus humanos

	Enterovirus						
		Coxsackie					
Propiedad	Polio	A[a]	B	Virus ECHO[a]	Enterovirus[b]	Parechovirus[c]	Rinovirus[d]
Serotipos	1-3	1-24	1-6	1-33	68-78	1-3	>100
pH ácido (pH 3.0)	Estable	Estable	Estable	Estable	Estable	Estable	Lábil
De densidad (g/ml)	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34		1.4
Temperatura óptima para desarrollo	37°C	37°C	37°C	37°C	37°C	37°C	33°C
Zonas frecuentes de aislamiento en seres humanos							
Nariz	0	0	0	0	0	0	+
Faringe	+	+	+	+	+		+
Intestino grueso	+	+	+	+	+	+	0
Infecta a ratones recién nacidos[e]	0	+	+	0			0

[a]Debido a las reclasificaciones no hay coxsackievirus A23, virus ECHO de tipo 8, 10, 22, 23, 28 o 34, o enterovirus tipo 72.

[b]Desde 1969, se ha asignado un número a nuevos enterovirus en vez de subclasificarlos con coxsackievirus o virus ECHO. Los enterovirus 79 a 101 todavía no se han incluido en la clasificación del International Committee on Taxonomy of Viruses.

[c]Los parechovirus 1 y 2 se clasificaron anteriormente como virus ECHO tipos 22 y 23.

[d]El rinovirus 87 se considera que es el mismo que el enterovirus 68.

[e]Existe alguna variabilidad en esta propiedad.

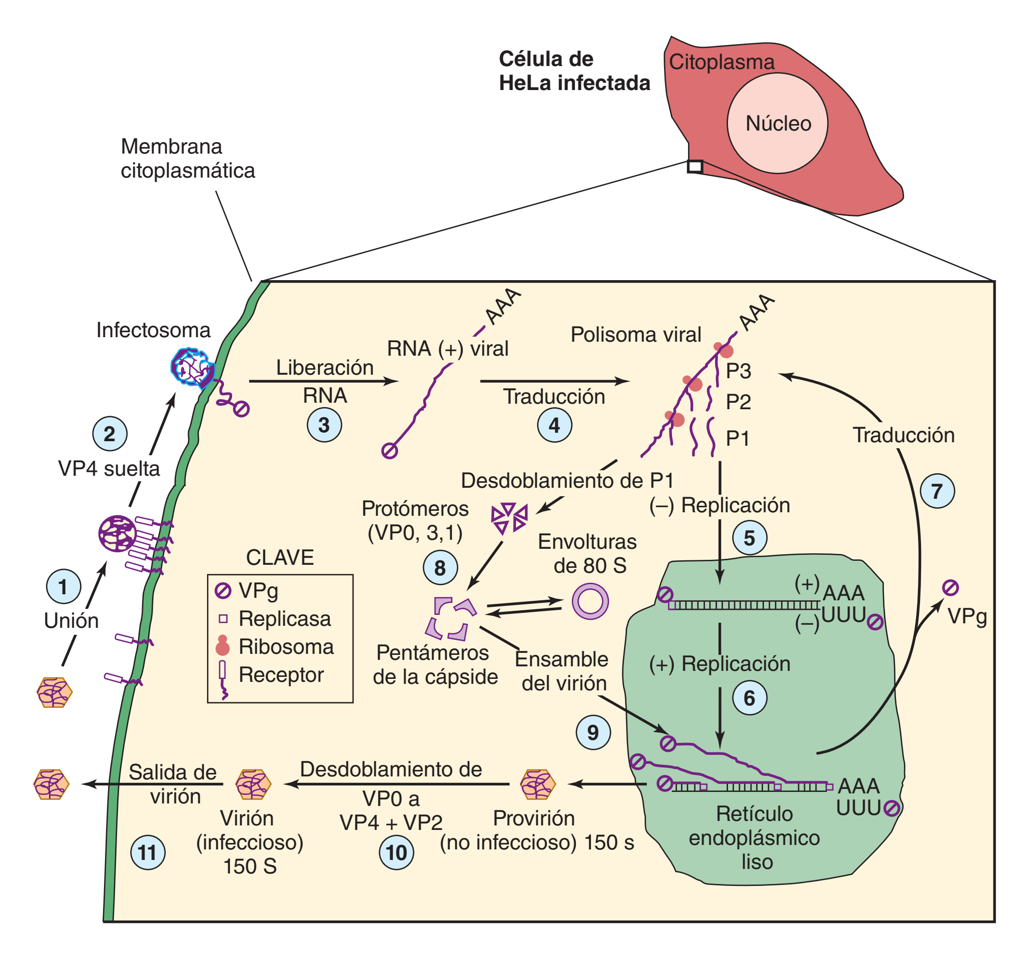


FIGURA 36-3 Generalidades del ciclo de infección por picornavirus. (Reproducida con autorización de Rueckert RR: Picornaviridae: The viruses and their replication. En: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

superfamilia de adhesión de la integrina. No todos los rinovirus o virus ECHO utilizan el mismo receptor celular. La unión al receptor desencadena un cambio en la conformación del virión que da por resultado la liberación del RNA viral hacia el citosol de la célula. VPg es retirado del RNA viral y se asocia con los ribosomas. La traducción ocurre a través de un mecanismo independiente de la cápside, utilizando el lugar de entrada en el ribosoma interno (IRES, *internal ribosome entry site*) hacia 3′ desde el extremo 5′ del genoma viral. Esto evita la necesidad del complejo de factor de iniciación celular intacto (eIF4F), que necesitan muchos mRNA celulares con envoltura. El eIF4 suele ser desdoblado por una proteasa viral, lo que da lugar a la inactivación de la síntesis de proteína del hospedador y la traducción preferente de RNA virales.

El RNA viral infectante se traduce en una poliproteína que contiene proteínas de la envoltura y proteínas de replicación esenciales. Esta poliproteína rápidamente es desdoblada en fragmentos por las proteinasas codificadas en la poliproteína (fig. 36-4). La síntesis de nuevo RNA viral no puede comenzar hasta que se producen las proteínas de replicación codificadas por el virus, lo que comprende una polimerasa de RNA dependiente de RNA. La tira de RNA viral infectante se copia y esa tira complementaria sirve de plantilla para la síntesis de nuevas tiras de polaridad positiva. Se generan muchas tiras codificantes a partir de cada plantilla de tiras de polaridad negativa. Algunas nuevas tiras de polaridad positiva son recicladas como plantillas para amplificar la reserva de descendencia de RNA; muchas cadenas positivas son empacadas en viriones.

La maduración implica varios pasos de desdoblamiento. La proteína P1 precursora de la envoltura (fig. 36-4) es desdoblada para formar agregados de VP0, VP3 y VP1. Cuando se alcanza una concentración adecuada, estos “protómeros” se ensamblan en pentámeros que empacan VPg-RNA de polaridad positiva para formar “proviriones”. Los proviriones no son infecciosos hasta que un desdoblamiento final modifica VP0 a VP4 y VP2. Las partículas de virus maduras son liberadas cuando la célula hospedadora se desintegra. El ciclo de multiplicación en la mayoría de los picornavirus tarda 5 a 10 h.

GRUPO DE ENTEROVIRUS

POLIOVIRUS

La poliomielitis es una enfermedad infecciosa aguda que en su forma grave afecta al sistema nervioso central. La destrucción de las motoneuronas en la médula espinal da por resultado parálisis flácida. Sin embargo, la mayor parte de las infecciones por poliovirus es asintomática.

El poliovirus ha servido de picornavirus modelo en muchos estudios de laboratorio de biología molecular de replicación de picornavirus.

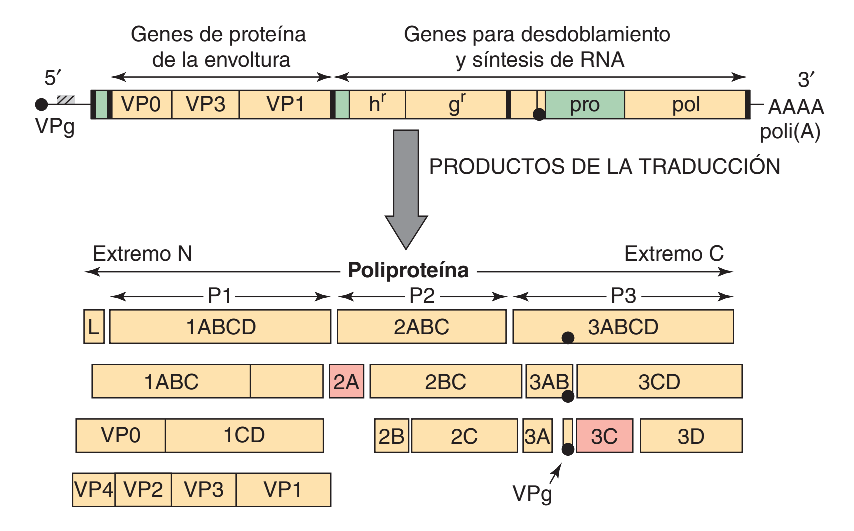


FIGURA 36-4 Organización y expresión del genoma de picornavirus. **Arriba:** La proteína VPg ligada al genoma se encuentra en el extremo 5′. La barra estriada sobre la región 5′-no traducida indica la presencia de un fascículo de ácido policitidílico que se detecta sólo en cardiovirus y aftovirus. La síntesis de la proteína es desde la izquierda (extremo N) hacia la derecha (extremo C). Las proteínas necesarias para la síntesis de RNA y las proteinasas necesarias para desdoblar la poliproteína son codificadas en dirección 3′ de la proteína de la cápside. **Abajo:** El desdoblamiento de la poliproteína se logra por las proteinasas 2A y 3C codificadas por el virus. El desdoblamiento de maduración (VP0 → VP4 + VP2) ocurre sólo después de que el RNA se ha empacado en la envoltura de proteína. La proteína 2A lleva a cabo desdoblamientos iniciales de la poliproteína y los otros desdoblamientos son realizados por la proteinasa 3C o una forma precursora, 3CD. (Reproducida con autorización de Rueckert RR: Picornaviridae: The viruses and their replication. En: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

Propiedades del virus

A. Propiedades generales

Las partículas de poliovirus son enterovirus típicos (véase antes). Se inactivan cuando se calientan a una temperatura de 55°C durante 30 min, pero el Mg^{2+}, en concentración de 1 mol/L, impide su inactivación. Si bien el poliovirus purificado se inactiva con una concentración de cloro de 0.1 ppm, se necesitan concentraciones mucho más altas de cloro para desinfectar el agua residual que contiene virus en suspensiones fecales y en presencia de otra materia orgánica. Los poliovirus no son afectados por el éter o el desoxicolato de sodio.

B. Susceptibilidad animal y desarrollo del virus

Los poliovirus tienen una gama de hospedadores muy restringida. La mayor parte de las cepas infectarán a los monos cuando se inoculen directamente en el cerebro o en la médula espinal. Los chimpancés y los monos cynomolgus, también pueden infectarse por vía oral; en los chimpancés, la infección suele ser asintomática y los animales se convierten en portadores intestinales del virus.

La mayor parte de las cepas puede desarrollarse en cultivos primarios o continuos de líneas celulares derivados de diversos tejidos humanos o de riñón, testículo o músculo de mono pero no de los tejidos de animales inferiores.

Los poliovirus necesitan un receptor de membrana específico de los primates para infectar y la ausencia de este receptor en la superficie de las células de no primates hace que los virus sean resistentes. Esta restricción puede superarse mediante la transfección de RNA de poliovirus infeccioso en las células resistentes. La introducción del gen de receptor viral convierte las células resistentes en células susceptibles. Se han desarrollado ratones transgénicos que albergan el gen de receptor de primate; son susceptibles a los poliovirus humanos.

C. Propiedades antigénicas

Existen tres tipos antigénicos de poliovirus.

Patogenia y anatomía patológica

La boca es la vía de entrada del virus y la multiplicación primaria tiene lugar en la bucofaringe o en el intestino. El virus por lo regular está presente en la faringe y en las heces antes del inicio de la enfermedad. Una semana después de la infección hay pocos virus presentes en la faringe, pero continúa excretándose en las heces durante varias semanas aun cuando existan altas concentraciones de anticuerpo en la sangre.

Se puede detectar el virus en la sangre de los pacientes con poliomielitis no paralítica. Los anticuerpos contra el virus aparecen en las primeras etapas de la enfermedad, por lo general antes de que ocurra la parálisis.

Se piensa que el virus se multiplica primero en las amígdalas, los ganglios linfáticos del cuello, las placas de Peyer y el intestino delgado. En ocasiones después se invade el sistema nervioso central a través de la sangre circulante.

Los poliovirus pueden diseminarse por los axones de los nervios periféricos hasta el sistema nervioso central, donde continúan avanzando a través de las fibras de las motoneuronas inferiores para afectar cada vez a la médula espinal o al cerebro. Los poliovirus invaden determinados tipos de células nerviosas y en el proceso de su multiplicación intracelular pueden lesionar o destruir por completo estas células.

Los poliovirus no se multiplican en músculo *in vivo*. Los cambios que ocurren en los nervios periféricos y en los músculos voluntarios son secundarios a la destrucción de las células nerviosas. Algunas células que pierden su función pueden restablecerse por completo. La inflamación es secundaria al ataque en las células nerviosas.

Además de los cambios patológicos observados en el sistema nervioso, puede presentarse miocarditis, hiperplasia linfática y ulceración de las placas de Peyer.

Manifestaciones clínicas

Cuando una persona que es susceptible a la infección se expone al virus, la respuesta varía desde la infección asintomática hasta una enfermedad febril leve y parálisis grave y permanente. La mayor parte de las infecciones es leve; sólo cerca de 1% de las infecciones produce enfermedad clínica.

El periodo de incubación suele ser de siete a 14 días pero puede variar de tres a 35 días.

A. Enfermedad leve

Ésta es la variante más frecuente de la enfermedad. El paciente sólo tiene una enfermedad leve, caracterizada por fiebre, ataque al estado general, somnolencia, cefalea, náusea, vómito, estreñimiento y faringitis en diversas combinaciones. La recuperación ocurre en pocos días.

B. Poliomielitis no paralítica (meningitis aséptica)

Además de los signos y síntomas presentados en el párrafo anterior, el paciente con la variante no paralítica tiene rigidez y dolor en la espalda y el cuello. La enfermedad dura dos a 10 días y el restablecimiento es rápido y completo. El poliovirus es sólo uno de los múltiples virus que producen meningitis aséptica. En un pequeño porcentaje de los casos, la enfermedad avanza a la parálisis.

C. Poliomielitis paralítica

La manifestación predominante es la parálisis flácida resultado de la lesión de la motoneurona inferior. Sin embargo, también se presentan incoordinación secundaria a la invasión del tronco encefálico y espasmos dolorosos de los músculos no paralizados. El grado de lesión es muy variable. El restablecimiento máximo por lo general ocurre en los primeros seis meses y la parálisis residual persiste por mucho más tiempo.

D. Atrofia muscular progresiva después de la poliomielitis

Se ha observado un recrudecimiento de la parálisis y de la atrofia muscular en los pacientes decenios después de haber sufrido poliomielitis paralítica. Si bien la atrofia muscular progresiva consecutiva a la poliomielitis es poco frecuente, constituye un síndrome específico. No parece ser consecuencia de la infección persistente sino más bien resultado de cambios fisiológicos y seniles en los pacientes con parálisis que ya tienen una pérdida de las funciones neuromusculares.

Diagnóstico de laboratorio

El virus puede obtenerse de exudados faríngeos obtenidos poco después del inicio de la enfermedad así como de exudados rectales o de muestras de heces obtenidas por periodos prolongados. No se han identificado portadores permanentes entre las personas inmunocompetentes, pero se ha observado la excreción de poliovirus a largo plazo en algunas personas inmunodeficientes. El poliovirus pocas veces se aísla del líquido cefalorraquídeo, a diferencia de algunos coxsackievirus y virus ECHO.

Las muestras siempre deben mantenerse congeladas durante el envío al laboratorio. Los cultivos de células humanas o de mono se inoculan, incuban y observan. Los efectos citopatógenos aparecen en un lapso de tres a seis días. Se identifica un virus aislado y se tipifica mediante neutralización con antisuero específico. Asimismo, se puede identificar el virus mediante análisis de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Se necesitan muestras de suero por pares para demostrar una elevación del título de anticuerpo durante el curso de la enfermedad. Sólo la primera infección por el poliovirus produce respuesta estrictamente de tipo específico. Las infecciones subsiguientes por poliovirus heterotípicos activan anticuerpos contra un antígeno de grupo que comparten los tres tipos.

Inmunidad

La inmunidad es permanente para el tipo de virus que produce la infección y es mediada predominantemente por anticuerpo. Puede haber un bajo grado de resistencia heterotípica provocada por la infección, sobre todo entre los poliovirus tipos 1 y 2.

La inmunidad pasiva se transmite de la madre a la descendencia. Los anticuerpos maternos gradualmente desaparecen durante los primeros seis meses de vida. El anticuerpo administrado en forma pasiva perdura sólo tres a cinco semanas.

El anticuerpo neutralizante del virus se forma poco después de la exposición al mismo, a menudo antes que comience la enfermedad, y al parecer persiste de por vida. Su formación en las primeras etapas de la enfermedad refleja el hecho de que hay una multiplicación viral en el cuerpo antes de la invasión del sistema nervioso. Puesto que el virus en el cerebro y en la médula espinal no está sujeto a la influencia de los títulos altos de anticuerpos en la sangre, la inmunización es útil sólo si antecede al inicio de los síntomas neurológicos.

La proteína de superficie VP1 del poliovirus contiene varios epitopos neutralizantes del virus, cada uno de los cuales contiene menos de 10 aminoácidos. Cada epitopo puede activar anticuerpos neutralizantes del virus.

Erradicación global

La Organización Mundial de la Salud en 1988 lanzó una campaña para erradicar el poliovirus del mundo, igual a la que se realizó para el virus de la viruela. En 1988 se calcularon alrededor de 350 000 casos de poliomielitis en todo el mundo. En 1994, los países de América fueron certificados como libres del poliovirus silvestre, la región del Pacífico Occidental en el año 2000, y en Europa, en 2002. Se están logrando avances en todo el mundo; todavía se presentan cada año menos de 2 000 casos de poliomielitis, sobre todo en África y en el subcontinente indio.

En 2009, sólo cuatro países permanecían con endemia de poliomielitis; sin embargo, como ocurrió en 2004 a 2005, los poliovirus silvestres pueden diseminarse a países libres de poliomielitis si se han suspendido los programas de vacunación.

Epidemiología

La poliomielitis ha tenido tres fases epidemiológicas: endémica, epidémica y la era de la vacuna. Las primeras dos reflejan

las pautas previas a la vacuna. La explicación generalmente aceptada es que la mejoría de los sistemas de higiene y de las condiciones sanitarias en los climas más fríos promovió la transmisión de la enfermedad paralítica endémica a epidémica en estos países.

Antes de que comenzara la erradicación mundial, la poliomielitis ocurría en todo el mundo, en todo el año en el trópico y durante el verano y el otoño en las zonas templadas. Los brotes epidémicos durante el invierno son infrecuentes.

La enfermedad se presenta en todos los grupos de edad, pero los niños suelen ser más susceptibles que los adultos debido a la inmunidad adquirida de la población adulta. En los países en vías de desarrollo, donde las condiciones de vida favorecen la amplia diseminación del virus, la poliomielitis es una enfermedad de la lactancia y de las primeras etapas de la infancia ("parálisis infantil"). En los países desarrollados, antes del advenimiento de la vacunación, la distribución por edades se modificó de manera que la mayoría de los pacientes tenía más de cinco años de edad y 25% era mayor de 15 años. Es variable la tasa de mortalidad. Es más alta en pacientes de edad más avanzada y puede llegar a 5 a 10%.

Los seres humanos son el único reservorio conocido de la infección. En condiciones de hacinamiento e higiene y sanidad deficientes en regiones cálidas, donde casi todos los niños adquieren inmunidad en las primeras etapas de la vida, los poliovirus se mantienen mediante la infección continua de una pequeña parte de la población. En zonas templadas con altos grados de higiene, después de las epidemias ha habido periodos de escasa diseminación del virus hasta que un número suficiente de niños susceptibles ha crecido para constituir un reservorio para la transmisión en la zona. Se puede aislar el virus de la faringe y del intestino de los pacientes y de portadores sanos. La prevalencia de la infección es más alta en los contactos domésticos.

En climas templados, la infección por enterovirus, incluido el poliovirus, se presenta principalmente durante el verano. El virus está presente en las aguas residuales durante periodos de gran prevalencia y puede ser fuente de contaminación del agua utilizada para beber, para bañarse o para riego. Existe una correlación directa entre la higiene deficiente, las malas condiciones sanitarias y el hacinamiento, y la adquisición de la infección y anticuerpos a una edad temprana.

Prevención y control

Se dispone de vacunas de virus vivos y virus muertos. La vacuna formalinizada (Salk) se prepara a partir de virus desarrollados en cultivos de riñón de mono. La vacuna de virus muertos produce anticuerpos humorales pero no desencadena inmunidad intestinal local de manera que el virus todavía puede multiplicarse en el intestino. Las vacunas orales contienen virus vivos atenuados desarrollados en cultivos primarios de células diploides de monos o seres humanos. La vacuna puede estabilizarse con cloruro de magnesio de manera que se puede mantener sin que pierda su potencia durante un año a una temperatura de 4°C y durante cuatro semanas a una temperatura ambiente moderada (alrededor de 25°C). La vacuna no estabilizada se debe mantener congelada hasta que se utilice.

La vacuna antipoliomielítica de microorganismos vivos infecta, se multiplica y, por tanto, inmuniza. En el proceso, la descendencia infecciosa del virus de la vacuna se disemina en la población. La vacuna produce no sólo anticuerpos IgM e IgG en la sangre sino también anticuerpos IgA secretores en el intestino, el cual luego se vuelve resistente a la reinfección (fig. 30-9).

Tanto la vacuna de virus muertos como la de virus vivos inducen a la formación de anticuerpos y protegen al sistema nervioso central de la invasión subsiguiente por virus natural. Sin embargo, el intestino desarrolla un grado mayor de resistencia después de la administración de la vacuna del virus vivo.

Un factor limitante potencial de la vacuna oral es la interferencia. Si el tubo digestivo de un niño está infectado con otro enterovirus cuando se le administra la vacuna, puede bloquearse el establecimiento de la infección por poliomielitis y de la inmunidad. Esto podría ser un problema importante en determinadas zonas (sobre todo en regiones tropicales) donde son frecuentes las infecciones por enterovirus.

Es posible que los virus de la vacuna, en particular los tipos 2 y 3, muten en el curso de su multiplicación en niños vacunados. Sin embargo, sólo se han presentado casos muy raros de poliomielitis paralítica en receptores de la vacuna antipoliomielítica oral o en sus contactos cercanos (no más de un caso relacionado con la vacuna por cada dos millones de personas vacunadas).

La vacuna trivalente oral por lo común se utilizó en Estados Unidos. Sin embargo, en el año 2000, el *Advisory Committee on Immunization Practices* recomendó un cambio al empleo de sólo vacuna con virus inactivados (cuatro dosis) en los niños estadounidenses. Se realizó el cambio en virtud del menor riesgo de que se produzca la enfermedad relacionada con el virus natural resultado del avance continuo en la erradicación mundial del poliovirus. Este esquema disminuirá la incidencia de la enfermedad relacionada con la vacuna y a la vez mantendrá la inmunidad individual y de la población contra los poliovirus.

Una vez que se logre la erradicación mundial, el empleo de la vacuna antipoliomielítica oral cesará. La continuación de su uso podría desencadenar el resurgimiento de la poliomielitis por mutación e incremento de la transmisibilidad y neurovirulencia del virus de la vacuna.

El embarazo no constituye una indicación ni una contraindicación para la inmunización necesaria. La vacuna de virus vivos no se debe administrar a personas inmunodeficientes o inmunodeprimidas o a sus contactos domésticos. En estos casos sólo se debe utilizar la vacuna de virus muertos (Salk).

No se dispone de antivirales para tratar la infección por poliovirus. La cuarentena de pacientes o contactos íntimos es ineficaz para controlar la diseminación de la enfermedad. Esto es comprensible en vista del gran número de infecciones asintomáticas que se presentan. La inmunoglobulina puede brindar protección durante algunas semanas contra la enfermedad paralítica pero no previene la infección asintomática. La inmunoglobulina es eficaz sólo cuando se administra poco antes de la infección; no tiene utilidad tras la aparición de los síntomas.

Antes del inicio de las campañas de vacunación en Estados Unidos, había casi 21 000 casos de poliomielitis paralítica por año.

COXSACKIEVIRUS

Los coxsackievirus, un subgrupo importante de enterovirus, se clasifican en dos grupos, A y B, los cuales tienen diferentes po-

tenciales patógenos en los ratones. Producen diversas enfermedades en el ser humano, entre ellas, meningitis aséptica y enfermedades febriles respiratorias e indiferenciadas. La herpangina (faringitis vesicular), el exantema viral de manos, pies y boca, y la conjuntivitis hemorrágica aguda son causados por determinados serotipos de coxsackievirus del grupo A; la pleurodinia (mialgias epidémicas), la miocarditis, la pericarditis y la enfermedad generalizada grave de los lactantes son causadas por algunos coxsackievirus del grupo B. Además de éstos, diversos serotipos de los grupos A y B pueden originar meningoencefalitis y parálisis. En general, la parálisis producida por los enterovirus diferentes al de la poliomielitis es incompleta y reversible. Los coxsackie virus del grupo B son los microorganismos causantes que se identifican más a menudo en personas con cardiopatía viral (cuadro 36-3). Los coxsackievirus tienden a ser más patógenos que los virus ECHO. Algunas de las cepas más recientes de los enterovirus muestran propiedades similares a las de los coxsackievirus.

Propiedades del virus

Los coxsackievirus son muy infecciosos en los ratones recién nacidos, en contraste con la mayor parte de los demás enterovirus humanos. Determinadas cepas (B1-6, A7, 9, 16 y 24) también se desarrollan en el cultivo de células renales del mono. Algunas cepas del grupo A se desarrollan en el amnios humano y en fi-

CUADRO 36-3 Enterovirus humanos y síndromes clínicos que suelen producir[a]

		Coxsackievirus				
Síndrome	**Poliovirus Tipos 1 a 3**	**Grupo A Tipos 1 a 24**	**Grupo B Tipos 1 a 6**	**Virus ECHO Tipos 1 a 33**	**Enterovirus Tipos 68 a 71**	**Parechovirus Tipos 1 a 3**
Neurológicos						
Meningitis aséptica	1-3	Muchos	1-6	Muchos	71	1
Parálisis	1-3	7, 9	2-5	2, 4, 6, 9, 11, 30	70, 71	3
Encefalitis		2, 5-7, 9	1-5	2, 6, 9, 19	70, 71	
Piel y mucosas						
Herpangina		2-6, 8, 10			71	
Exantema viral de manos, pies y boca		5, 10, 16			71	
Exantemas		Muchos	5	2, 4, 6, 9, 11, 16,18		
Cardiacos y musculares						
Pleurodinia (mialgia epidémica)			1-5	1, 6, 9		
Miocarditis, pericarditis			1-5	1, 6, 9, 19		1
Ocular						
Conjuntivitis hemorrágica aguda		24			70	
Respiratorio						
Resfriados comunes		21, 24	1, 3, 4, 5	4, 9, 11, 20, 25		1
Neumonía			4, 5		68	1
Neumonitis de lactantes		9, 16				
Edema pulmonar					71	
Digestivos						
Diarrea		18, 20-22, 24[b]		Muchos[b]		1
Hepatitis		4, 9	5	4, 9		
Otros						
Enfermedad febril no diferenciada	1-3		1-6			
Enfermedad generalizada de los lactantes			1-5	11		
Diabetes mellitus			3, 4			

[a]Los ejemplos no abarcan todos los casos. Otros tipos de enterovirus pueden relacionarse con una determinada enfermedad.

[b]No se ha establecido la causalidad.

broblastos pulmonares de embriones humanos. El de tipo A14 produce lesiones parecidas a las de la poliomielitis en ratones adultos y en monos, pero sólo miositis en los ratones lactantes. Las cepas tipo A7 producen parálisis y lesiones graves del sistema nervioso central en los monos. Los virus del grupo A producen miositis generalizada en músculos esqueléticos de ratones recién nacidos, lo que produce parálisis flácida sin otras lesiones observables. La constitución genética de las cepas endogámicas de ratones determina su susceptibilidad al coxsackie virus B.

Patogenia y anatomía patológica

Se ha aislado el virus de la sangre en las primeras etapas de la infección natural en seres humanos. El virus también se encuentra en la faringe durante algunos días en las primeras fases de la infección y en las heces hasta por cinco a seis semanas. La distribución del virus es similar a la de los demás enterovirus.

Manifestaciones clínicas

El periodo de incubación de la infección por coxsackievirus es de dos a nueve días. Las manifestaciones clínicas de la infección con diversos coxsackievirus son diversas y pueden manifestarse como diferentes entidades patológicas (cuadro 36-3). Varían desde la enfermedad febril leve hasta enfermedades del sistema nervioso central, dermatológicas, cardiacas y respiratorias. Los ejemplos que se muestran no incluyen todo; diferentes serotipos pueden relacionarse con un brote epidémico específico.

La **meningitis aséptica** es causada por todos los tipos de coxsackievirus del grupo B y por muchos coxsackievirus del grupo A, los más frecuentes son A7 y A9. La fiebre, el malestar, la cefalea, la náusea y el dolor abdominal son los síntomas iniciales frecuentes. La enfermedad a veces avanza a la debilidad muscular leve sugestiva de poliomielitis paralítica. Los pacientes casi siempre se restablecen por completo de una paresia que no se relaciona con poliovirus.

La **herpangina** es una faringitis febril grave causada por determinados virus del grupo A. Pese a su nombre, no tiene nada que ver con los herpesvirus. Hay un inicio brusco de fiebre y faringitis con vesículas circunscritas en la mitad posterior del paladar, la faringe, las amígdalas o la lengua. La enfermedad cede espontáneamente y es más frecuente en los niños pequeños.

El **exantema viral de manos, pies y boca** se caracteriza por ulceraciones bucales y faríngeas y un exantema vesicular de las palmas de las manos y las plantas de los pies que puede diseminarse a los brazos y a las piernas. Las vesículas cicatrizan sin dejar costras, lo cual las distingue clínicamente de las vesículas de los herpesvirus y los virus que provocan exantemas. Esta enfermedad se ha relacionado sobre todo con los coxsackievirus de tipo A16. El virus puede aislarse no sólo de las heces y las secreciones faríngeas sino también del líquido vesicular. No debe confundirse con la fiebre aftosa vacuna, causada por un picornavirus no relacionado que no infecta al ser humano.

La **pleurodinia** (también conocida como mialgia epidémica) es causada por virus del grupo B. La fiebre y el dolor torácico lancinante suelen tener una instauración brusca pero a veces van precedidos de ataque al estado general, cefalea y anorexia. El dolor torácico puede persistir durante dos días a dos semanas. El dolor abdominal se presenta en casi la mitad de los casos y en los niños esto puede ser la principal molestia. La enfermedad se autolimita y el restablecimiento es completo, aunque las recaídas son frecuentes.

La **miocarditis** es una enfermedad grave. Es una inflamación aguda del corazón o de las membranas que lo cubren (pericarditis). Las infecciones por coxsackievirus son una causa de miocarditis primaria en los adultos y en los niños. Alrededor de 5% de todas las infecciones sintomáticas por coxsackievirus producen cardiopatía. Las infecciones pueden ser mortales en los recién nacidos o pueden causar lesión cardiaca permanente a cualquier edad. Es posible que se presenten infecciones virales persistentes de músculo cardiaco, lo cual mantiene la inflamación crónica.

Se calcula que los enterovirus producen 15 a 20% de las infecciones respiratorias, sobre todo en el verano y en el otoño. Diversos coxsackievirus se han relacionado con **resfriados comunes** y con **enfermedades febriles indiferenciadas**.

La **enfermedad generalizada de los lactantes** es una enfermedad extremadamente grave en la cual el lactante es agobiado por infecciones virales simultáneas de múltiples órganos, incluidos corazón, hígado y cerebro. La evolución clínica puede provocar rápidamente la muerte o en ocasiones el paciente se restablece por completo. La enfermedad es causada por coxsackievirus del grupo B. En los casos graves, la miocarditis o la pericarditis puede presentarse en los primeros ocho días de vida; algunas veces se presenta ante un episodio breve de diarrea y anorexia. En ocasiones la enfermedad se adquiere por vía transplacentaria.

Aunque el tubo digestivo es el principal lugar donde se replican los enterovirus, no producen ahí una enfermedad intensa. Determinados coxsackievirus del grupo A se han relacionado con la **diarrea** en los niños, pero no se ha demostrado la causalidad.

Diagnóstico de laboratorio

A. Aislamiento del virus

El virus se puede aislar de lavados faríngeos durante los primeros días de la enfermedad y de las heces durante las primeras semanas. En las infecciones por coxsackievirus A21 se encuentra la máxima cantidad de virus en las secreciones nasales. En los casos de meningitis aséptica, se han aislado cepas del líquido cefalorraquídeo y también del tubo digestivo. En los casos de conjuntivitis hemorrágica, se aísla el virus A24 de exudados conjuntivales, exudados faríngeos y de las heces.

Las muestras se inoculan en cultivos de tejido y también en ratones lactantes. En el cultivo de tejido aparece un efecto citopático al cabo de cinco a 14 días. En los ratones lactantes, los signos de enfermedad suelen aparecer en la primera semana con las cepas del grupo A y a las dos semanas con las cepas del grupo B. Se identifica el virus por las lesiones patológicas que producen y por medios inmunológicos. Dadas las dificultades de la técnica, raras veces se intenta el aislamiento del virus en los ratones lactantes.

B. Detección de ácido nucleico

Los métodos para la detección directa de enterovirus proporcionan análisis rápidos y sensibles que son útiles para las muestras clínicas. Las pruebas de PCR con transcriptasa inversa son ampliamente reactivas (detectan muchos serotipos) o más específicas. Estos análisis ofrecen ventajas con respecto

a los métodos de cultivo celular, ya que muchas cepas clínicas de enterovirus tienen características de crecimiento difícil. Las pruebas de PCR en tiempo real tienen una sensibilidad equivalente a los análisis de PCR habituales, pero su realización es más sencilla.

C. Estudios serológicos

Los anticuerpos neutralizantes aparecen durante el curso de la infección, tienden a ser específicos para el virus infectante y persisten por años. También se pueden detectar anticuerpos séricos y titularse mediante la técnica inmunofluorescente, utilizando cultivos de células infectadas en cubreobjetos como antígenos. Los estudios serológicos son difíciles de evaluar (debido a la multiplicidad de tipos) a menos que el antígeno utilizado en la prueba se haya aislado de un paciente específico o durante un brote epidémico.

Inmunidad

En el ser humano, los anticuerpos neutralizantes se transfieren pasivamente de la madre al feto. Los adultos tienen anticuerpos contra más tipos de coxsackievirus de los niños, lo que indica que son frecuentes las experiencias múltiples con estos virus y cada vez más conforme avanza la edad.

Epidemiología

Los virus del grupo coxsackie se han detectado en todo el mundo. Se han realizado aislamientos principalmente de heces humanas, exudados faríngeos, aguas residuales y moscas. Se detectan anticuerpos contra diversos coxsackievirus en el suero obtenido de personas de todo el mundo y en concentrados de inmunoglobulina.

Los tipos más frecuentes de coxsackievirus aislados en todo el mundo durante un periodo de ocho años (1967 a 1974) fueron los tipos A9 y B2 a B5. En Estados Unidos, de 1970 a 2005, las detecciones de coxsackievirus más frecuentes fueron los tipos A9, B2 y B4 en patrones endémicos y el tipo B5 en un patrón epidémico. Sin embargo, en cualquier año o región, puede predominar otro tipo. Un patrón epidémico se caracteriza por fluctuaciones de las concentraciones circulantes, en tanto que un patrón endémico muestra bajas concentraciones estables en la circulación con algunas elevaciones.

Los coxsackievirus se aíslan con mucha más frecuencia en el verano y a principios del otoño. Los niños presentan anticuerpos en el verano, lo que indica infección por coxsackievirus durante este periodo. Estos niños tienen tasas de incidencia mucho más altas de enfermedades leves agudas, febriles, durante el verano que los niños que no desarrollan anticuerpos contra coxsackievirus.

La exposición familiar es importante en la adquisición de las infecciones por coxsackievirus. Una vez que se introduce el virus en un hogar, todas las personas susceptibles por lo general se infectan, aunque no todas presentan enfermedad clínicamente manifiesta.

Los coxsackievirus comparten muchas propiedades con otros enterovirus, incluidos los virus ECHO y los poliovirus. Dadas las similitudes epidemiológicas, pueden presentarse diversos enterovirus juntos en la naturaleza, incluso en el mismo hospedador humano o las mismas especies de aguas residuales.

Control

En la actualidad no se dispone de vacunas o antivirales para la prevención o el tratamiento de las enfermedades causadas por coxsackievirus.

OTROS ENTEROVIRUS

Los virus ECHO (*e*nteric *c*ytopathogenic *h*uman *o*rphan virus), según su terminología histórica, fueron agrupados en forma conjunta porque infectan el intestino humano y porque pueden aislarse del ser humano sólo mediante la inoculación de determinados cultivos de tejidos. Se conocen más de 30 serotipos, pero no todos se han relacionado con enfermedad humana. Las cepas más recientes se designan como enterovirus numerados. La meningitis aséptica, la encefalitis, las enfermedades febriles con o sin exantema, los resfriados comunes y la enfermedad ocular son algunas de las enfermedades causadas por virus ECHO u otros enterovirus.

Manifestaciones clínicas

Para establecer la relación causal de un enterovirus con la enfermedad, se utilizan los siguientes criterios: 1) hay una tasa de aislamiento del virus mucho más elevada en pacientes con la enfermedad que en personas sanas de la misma edad y posición socioeconómica que viven en la misma zona en el mismo momento. 2) Los anticuerpos contra el virus aparecen durante el curso de la enfermedad. Si el síndrome clínico pudiera ser por otros microorganismos conocidos, las pruebas virológicas o serológicas deben ser negativas para la infección concomitante por tales microorganismos. 3) El virus se aísla de líquidos o tejidos corporales que presentan las lesiones, por ejemplo, del líquido cefalorraquídeo en los casos de meningitis aséptica.

Muchos virus ECHO se han relacionado con meningitis aséptica. Los exantemas son más frecuentes en los niños pequeños. La diarrea infantil puede relacionarse con algunos tipos, pero no se ha establecido una relación de causa y efecto. En el caso de muchos virus ECHO, no se han definido entidades patológicas.

El enterovirus 70 es la principal causa de conjuntivitis hemorrágica aguda. Se aisló de la conjuntiva de pacientes con esta enfermedad ocular notable, la cual se presentó en la forma pandémica en 1969 a 1971 en África y el sureste de Asia. La conjuntivitis hemorrágica aguda tiene una instauración súbita de hemorragia subconjuntival. La enfermedad es más frecuente en los adultos con un periodo de incubación de un día y una duración de ocho a 10 días. El restablecimiento completo es la regla. El virus es muy transmisible y se disemina rápidamente bajo condiciones de hacinamiento o de falta de higiene.

Se ha aislado enterovirus 71 de pacientes con meningitis, encefalitis y parálisis que se parecen a la poliomielitis. Es una de las principales causas de la afectación del sistema nervioso central, que a veces es mortal, en todo el mundo. En 2008, en China, se presentó un brote epidémico de exantema viral de manos, pies y boca por enterovirus 71 y comprendió casi 4 500 casos y 22 decesos de lactantes y niños pequeños.

Con la eliminación virtual de la poliomielitis en los países desarrollados, los síndromes del sistema nervioso central relacionados con coxsackievirus, virus ECHO y otros entero-

virus, han asumido más importancia. Los últimos en los niños menores de un año pueden producir secuelas neurológicas y alteraciones mentales. Los enterovirus aislados de muestras fecales de pacientes con parálisis flácida aguda en Australia entre 1996 y 2004 comprendieron coxsackievirus A24 y B5; virus ECHO 9, 11 y 18; y enterovirus 71 y 75. El enterovirus 71 fue más frecuente.

Diagnóstico de laboratorio

Es imposible en un caso individual diagnosticar una infección por virus ECHO basándose en los datos clínicos. Sin embargo, en las siguientes situaciones epidémicas, se deben tomar en cuenta los virus ECHO: 1) brotes de meningitis aséptica en el verano y 2) epidemias en verano, sobre todo en niños pequeños, de una enfermedad febril con exantema.

El diagnóstico depende de las pruebas de laboratorio. Los análisis de detección de ácido nucleico, como PCR, son más rápidos que el aislamiento del virus para diagnóstico. Aunque quizá no se identifique el virus específico mediante PCR, a menudo no es necesario determinar el serotipo específico de enterovirus infectante relacionado con una enfermedad.

El aislamiento del virus puede llevarse a cabo en frotis faríngeos, heces, frotis rectales y, en el caso de la meningitis aséptica, en el líquido cefalorraquídeo. Las pruebas serológicas no son prácticas, por los múltiples tipos virales distintos, excepto cuando se ha aislado un virus de un paciente o durante un brote de enfermedad clínica característica. Los anticuerpos neutralizantes e inhibidores de la hemaglutinación son de tipos específicos y pueden persistir por años.

Si se aísla un microorganismo en cultivo de tejido, puede evaluarse comparando con diferentes reservorios de antisueros contra enterovirus. La determinación del tipo de virus presente es mediante pruebas inmunofluorescentes o Nt. La infección por dos o más enterovirus puede ocurrir en forma simultánea.

Epidemiología

La epidemiología de los virus ECHO es similar a la de otros enterovirus. Se presenta en todas partes del mundo y es más probable que se detecte en los pequeños que en los ancianos. En las zonas templadas, las infecciones ocurren principalmente durante el verano y el otoño y tienen una prevalencia casi cinco veces mayor en los niños de familias de bajos ingresos que en los que viven en circunstancias más favorables.

Los virus ECHO aislados con más frecuencia en todo el mundo durante el periodo de 1967 a 1974 fueron los tipos 4, 6, 9, 11 y 30. En Estados Unidos, de 1970 a 2005, los virus ECHO detectados más a menudo fueron los tipos 6, 9, 11, 13 y 30, junto con los coxsackievirus A9, B2, B4 y B5, así como enterovirus 71, y las enfermedades observadas con más frecuencia en estos pacientes fueron meningitis aséptica y encefalitis. Sin embargo, al igual que con todos los enterovirus, la diseminación de diferentes serotipos puede ocurrir en oleadas y diseminarse ampliamente.

Al parecer hay un grupo central de enterovirus constantemente circulantes que determinan la mayor parte de la morbilidad. Quince serotipos representaron 83% de los informes en Estados Unidos entre 1970 y 2005. Los niños menores de un año de edad representaron 44% de los casos de la enfermedad.

Los estudios de familias en los cuales se introdujeron los enterovirus, demostraron la facilidad con la cual estos microorganismos se diseminan y la elevada frecuencia de infección en las personas que no habían formado anticuerpos por exposiciones previas. Esto es aplicable a todos los enterovirus.

Control

Es recomendable que los niños muy pequeños eviten el contacto con pacientes que muestran la enfermedad febril aguda. No se dispone de antivirales o vacunas (a excepción de las vacunas contra la poliomielitis) para el tratamiento o la prevención de cualquier enfermedad por enterovirus.

ENTEROVIRUS EN EL MEDIO AMBIENTE

Los seres humanos son el único reservorio conocido para los miembros del grupo de los enterovirus humanos. Estos virus por lo general se eliminan por periodos más prolongados en las heces que en las secreciones del tubo digestivo alto. En consecuencia, la contaminación fecal (manos, utensilios, alimento, agua) es la vía habitual de la diseminación del virus. Se encuentran enterovirus en cantidades variables en las aguas residuales. Éstas constituyen una fuente de contaminación de los suministros de agua que se utilizan para beber, bañarse, riego, o actividades recreativas (fig. 36-5). Los enterovirus sobreviven a la exposición a los tratamientos y la cloración de aguas residuales en la práctica, y los desechos humanos en gran parte del mundo son descargados en las aguas naturales que son objeto de un tratamiento mínimo o nulo. Los brotes epidémicos de enterovirus transmitidos por el agua son difíciles de reconocer y se ha demostrado que los virus pueden viajar largas distancias desde la fuente de contaminación y mantenerse infecciosos. La adsorción a materiales orgánicos y sedimentos protege a los virus de la inactivación y ayuda a su transporte. Se ha observado que los mariscos que se alimentan con filtros (ostiones, almejas, mejillones) concentran los virus del agua y, si no se cuecen de manera adecuada, pueden transmitir la enfermedad. Las normas bacteriológicas utilizando los índices coliformes fecales como una vigilancia de la calidad del agua probablemente no son un reflejo adecuado del potencial para transmitir la enfermedad viral.

GRUPO PARECHOVIRUS

Este género fue definido en la década de 1990 y contiene seis tipos, de los cuales los 1 y 2 fueron originalmente clasificados como virus ECHO 22 y 23. Los parechovirus son muy distintos a los enterovirus y no tienen una secuencia proteínica mayor de 30% de identidad con la proteína correspondiente de otros picornavirus. La cápside contiene tres proteínas, ya que la proteína precursora VP0 no es desdoblada.

Las infecciones por parechovirus suelen adquirirse en las primeras etapas de la infancia. Los virus se replican en el sistema respiratorio y digestivo. Se ha comunicado que producen enfermedades similares a otros enterovirus, por ejemplo, enfermedades digestivas y respiratorias, meningoencefalitis, otitis media y enfermedades neonatales.

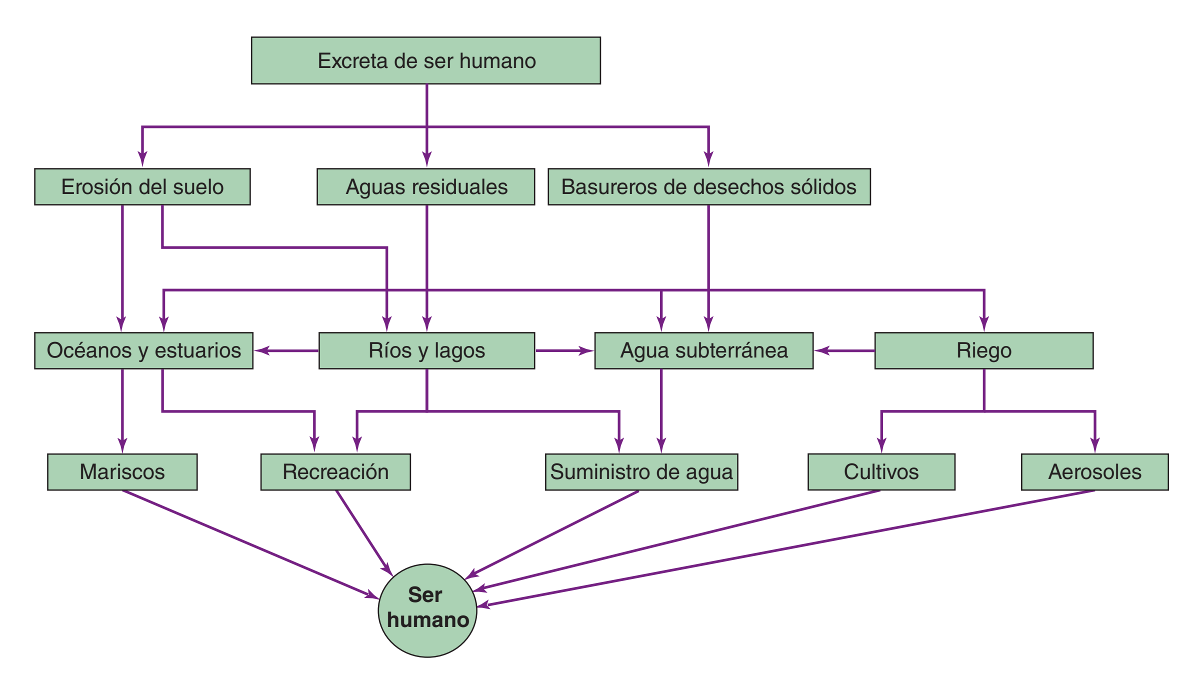


FIGURA 36-5 Rutas de la posible transmisión de virus intestinal en el medio ambiente. (Reproducida con autorización de Melnick JL, Gerba CP, Wallis C: Viruses in water. Bull World Health Org 1978;56:499.)

GRUPO DE LOS RINOVIRUS

Los rinovirus son los virus que causan el resfriado común. Son los microorganismos que se aíslan con mayor frecuencia en personas con enfermedades respiratorias altas leves. Suelen aislarse de secreciones nasales pero también de las secreciones faríngeas u orales. Estos virus, al igual que los coronavirus, adenovirus, enterovirus, virus de la parainfluenza y virus de la influenza, producen infecciones respiratorias altas, como el síndrome del resfriado común. Los rinovirus también son causa de casi la mitad de las exacerbaciones de asma.

Clasificación

Las cepas de rinovirus humanos se numeran en forma secuencial. Se conocen más de 100 especies. Las cepas dentro de una especie comparten una identidad de secuencia mayor de 70% con determinadas regiones codificadoras de proteína.

Los rinovirus humanos se pueden dividir en grupos de receptores mayores y menores. Los virus del grupo mayor utilizan la molécula de adherencia intercelular-1 (ICAM-1, *intercellular adhesion molecule*) como receptor y los del grupo menor se unen a miembros de la familia del receptor de lipoproteína de baja densidad (LDLR, *low-density lipoprotein receptor*).

Propiedades de los virus

A. Propiedades generales

Los rinovirus son picornavirus similares a los enterovirus pero difieren de ellos en que tienen una densidad de flotación en cloruro de cesio de 1.40 g/ml y en que son acidolábiles. Los viriones son inestables a un pH inferior de 5 a 6 y la inactivación completa ocurre a un pH de 3.0. Los rinovirus son más termoestables que los enterovirus y pueden sobrevivir horas en superficies ambientales.

La identidad de la secuencia de nucleótido en todo el genoma es mayor de 50% entre todos los rinovirus y entre los enterovirus y los rinovirus. Hay una mayor o menor identidad para regiones genómicas específicas.

En 2009, se determinó la secuencia de los genomas de todas las cepas conocidas de rinovirus, definiéndose regiones conservadas y divergentes. Esta información facilitará una nueva comprensión del potencial patógeno y del diseño de fármacos y vacunas antivirales.

B. Susceptibilidad de animales y desarrollo del virus

Estos virus son infecciosos sólo en seres humanos, gibones y chimpancés. Se pueden cultivar en diversos linajes celulares humanos, incluidos los linajes WI-38 y MRC-5. Los cultivos de órgano de hurones y de epitelio traqueal humano pueden ser necesarios para algunas cepas de cultivo difícil. La mayoría se desarrolla mejor a una temperatura de 33°C, que es similar a la temperatura de la nasofaringe en el ser humano, que a 37°C.

C. Propiedades antigénicas

Se conocen más de 100 serotipos. Los nuevos serotipos se basan en la falta de reactividad cruzada en las pruebas Nt que utilizan antisueros policlonales. En la actualidad se considera que el rinovirus humano 87 es el mismo serotipo que el enterovirus humano 68.

Patogenia y anatomía patológica

El virus entra en las vías respiratorias altas. Los títulos altos de virus en las secreciones nasales, que pueden descubrirse desde los dos a cuatro días después de la exposición, se relacionan con enfermedad máxima. A partir de entonces, descienden los títulos, aunque persista la enfermedad. En algunos casos, los virus

pueden permanecer detectables durante tres semanas. Existe una correlación directa entre la cantidad del virus en las secreciones y la gravedad de la enfermedad.

La replicación está limitada a la superficie del epitelio de la mucosa nasal. Las biopsias han demostrado que los cambios histopatológicos están circunscritos a la submucosa y al epitelio superficial. Éstos consisten en edema e infiltración celular leve. La secreción nasal aumenta en cantidad y en la concentración de proteínas.

Los rinovirus pocas veces producen infección de las vías respiratorias bajas en personas sanas, aunque se relacionan con casi todas las exacerbaciones agudas del asma. Los experimentos bajo condiciones controladas han demostrado que los escalofríos, lo que comprende el uso de ropas húmedas, no producen resfriado ni incrementan la susceptibilidad al virus. Los escalofríos constituyen un síntoma inicial del resfriado común.

Manifestaciones clínicas

El periodo de incubación es breve, de dos a cuatro días, y la enfermedad aguda suele persistir durante siete días aunque una tos no productiva puede persistir durante dos a tres semanas. El adulto promedio tiene uno a dos ataques cada año. Los síntomas habituales en los adultos comprenden estornudos, obstrucción nasal, secreción nasal y disfagia; otros síntomas son cefalea, tos leve, malestar y una sensación de frío. La fiebre es mínima o nula. La mucosa nasal y nasofaríngea se enrojece y se edematiza. No hay manifestaciones clínicas distintivas que permitan un diagnóstico etiológico de resfriados comunes causados por rinovirus frente a los resfriados causados por otros virus. La infección bacteriana secundaria puede producir otitis media aguda, sinusitis, bronquitis o neumonitis, sobre todo en los niños.

Inmunidad

El anticuerpo neutralizante contra el virus infeccioso se presenta en el suero y en las secreciones de la mayoría de las personas. Dependiendo de la prueba utilizada, las estimaciones de la frecuencia de respuesta han variado de 37% a más de 90%.

El anticuerpo se desarrolla siete a 21 días después de la infección; el momento de aparición de anticuerpos neutralizantes en las secreciones nasales es igual al de los anticuerpos en suero. Dado que el restablecimiento tras la enfermedad suele anteceder a la aparición de anticuerpos, parece que el restablecimiento no depende de anticuerpos. Sin embargo, los anticuerpos pueden lograr la eliminación final de la infección. Los anticuerpos séricos persisten durante años pero disminuyen los títulos.

Epidemiología

La enfermedad ocurre en todo el mundo. En las zonas templadas, las tasas de ataque son máximas a principios del otoño y a finales de la primavera. Las tasas de prevalencia son menores en verano. Los miembros de comunidades aisladas constituyen grupos muy susceptibles.

Se piensa que el virus es transmitido a través del contacto estrecho, por medio de secreciones respiratorias contaminadas con el virus. Los dedos de una persona con un resfriado común suelen estar contaminados y la transmisión a personas susceptibles ocurre entonces por la contaminación mano a mano, mano a ojo o mano a objeto (p. ej., la perilla de la puerta). Los rinovirus pueden sobrevivir durante horas en superficies ambientales contaminadas. La autoinoculación después de la contaminación de las manos es un mecanismo de diseminación más importante que mediante partículas transmitidas en el aire.

Las tasas de infección son máximas en los lactantes y en los niños y disminuyen conforme aumenta la edad. La unidad familiar constituye una fuente importante de diseminación de los rinovirus. La introducción del virus en general es atribuible a niños preescolares y de edad escolar. Las tasas de ataque secundario en la familia varían de 30 a 70%. Las infecciones en los niños pequeños son sintomáticas en tanto que las infecciones en los adultos suelen ser asintomáticas.

En una sola comunidad, múltiples serotipos de rinovirus producen brotes epidémicos de la enfermedad en una sola temporada y diferentes serotipos predominan durante diversas temporadas de las enfermedades respiratorias. Suele haber un número limitado de serotipos que producen enfermedad en un determinado momento.

Tratamiento y control

No se dispone de ningún método de prevención específico o tratamiento. Es improbable que se desarrolle una vacuna potente contra rinovirus debido a la dificultad para el desarrollo de títulos altos de rinovirus en cultivo, a la inmunidad fugaz y a la multiplicidad de serotipos que producen resfriados comunes.

Se piensa que los antivirales son una medida de control más factible para los rinovirus en virtud de los problemas inherentes al desarrollo de la vacuna. Muchos compuestos eficaces *in vitro* no han sido clínicamente eficaces.

Se ha demostrado que un esquema de cinco días de dosis altas de interferón α intranasal es eficaz para prevenir la diseminación de los rinovirus a partir de un caso índice dentro de la familia. No fue eficaz como tratamiento de infecciones establecidas.

FIEBRE AFTOSA (AFTOVIRUS DEL GANADO)

Esta enfermedad muy infecciosa de animales de pezuña hendida como el ganado vacuno, corderos, cerdos y vacas, es infrecuente en Estados Unidos pero es endémica en otros países. Puede transmitirse al ser humano por contacto o ingestión. En las personas, la enfermedad se caracteriza por fiebre, salivación y formación de vesículas en las mucosas de la bucofaringe y de la piel de palmas, plantas, dedos de las manos y de los pies.

El virus es un picornavirus típico y es acidolábil (las partículas son inestables en un pH menor de 6.8). Tiene una densidad de flotación en cloruro de cesio de 1.43 g/ml. Existen por lo menos siete tipos con más de 50 subtipos.

La enfermedad en los animales es muy contagiosa en las primeras etapas de la infección cuando hay viremia y cuando las vesículas en la boca y en los pies se rompen y liberan grandes cantidades de virus. El material excretado sigue siendo infeccioso por periodos prolongados. La tasa de mortalidad en los animales suele ser baja pero puede llegar a 70%. Los animales infectados se convierten en productores deficientes de leche y carne. Muchos ganados son focos de infección hasta por ocho

meses. La inmunidad después de la infección tiene una duración breve.

Diversos animales son susceptibles a la infección y el virus se ha aislado por lo menos en 70 especies de mamíferos. La enfermedad típica puede reproducirse mediante la inoculación del virus en las almohadillas de las patas. Se han preparado vacunas tratadas con formalina a partir de virus desarrollados en cultivos de tejido, pero tales vacunas no producen inmunidad duradera. Se están desarrollando nuevas vacunas basadas en técnicas de DNA recombinante.

Los métodos de control de la enfermedad están regidos por su alto grado de contagiosidad y la resistencia del virus a la inactivación. En caso de que ocurriese un foco de infección en Estados Unidos, todos los animales expuestos son sacrificados y se eliminan sus cadáveres. Se establece una cuarentena estricta y se asume que la zona no es segura hasta que los animales susceptibles no presenten síntomas en un periodo de 30 días. Otro método es la cuarentena de la manada y vacunación de todos los animales no afectados. En otros países se han empleado satisfactoriamente esquemas de vacunación sistemáticos. En algunos países (p. ej., Estados Unidos y Australia) se prohíbe la importación de materiales potencialmente infecciosos como carne fresca, y la enfermedad se ha eliminado en estas zonas.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones sobre los rinovirus es correcta?
   (A) Hay tres tipos antigénicos
   (B) La amantadina protege contra la infección
   (C) No sobreviven en superficies ambientales
   (D) Son el microorganismo causal más frecuente del resfriado común
   (E) Comparten similitudes fisicoquímicas con los coronavirus
2. Un varón de 26 años de edad presenta miopericarditis con insuficiencia cardiaca congestiva leve que se incrementa en el curso de varias semanas. Se diagnostica una infección por coxsackievirus tipo B5. ¿Cuál de los siguientes síndromes clínicos no se relaciona con infecciones por coxsackievirus?
   (A) Herpangina
   (B) Miocarditis/pericarditis
   (C) Meningitis aséptica
   (D) Conjuntivitis hemorrágica aguda
   (E) Atrofia muscular progresiva posterior a la poliomielitis
3. Un niño de tres meses de edad presenta fiebre, inquietud y llanto inusual. Estos síntomas se acompañan de una letargia evidente. La exploración física muestra un lactante de aspecto normal con respuesta mínima a los estímulos. Con la punción lumbar se obtiene líquido cefalorraquídeo con 200 leucocitos/μl, con predominio de linfocitos. Se diagnostica meningitis aséptica aguda, probablemente causada por un enterovirus. Los enterovirus se caracterizan por
   (A) Latencia en los ganglios sensoriales y reactivación principalmente en los pacientes inmunodeprimidos
   (B) Transmisión principalmente por la vía fecal-oral
   (C) La presencia de una enzima DNA polimerasa
   (D) La entrada en las células después de la unión al receptor ICAM-1
   (E) Sufrir cambio antigénico y latencia
4. Se han utilizado vacunas de picornavirus durante varios decenios en la prevención de la enfermedad humana. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es correcta?
   (A) La vacuna de poliovirus vivos atenuados produce resistencia en el tubo digestivo
   (B) Hay una vacuna de microorganismos muertos eficaz contra los tres tipos principales de rinovirus
   (C) La vacuna de poliovirus atenuados vivos activa la inmunidad protectora contra los virus coxsackie B íntimamente relacionados
   (D) Ninguna de las vacunas de virus ECHO disponibles debe administrarse a pacientes inmunodeprimidos
   (E) En la actualidad sólo se recomienda la vacuna de poliovirus vivos atenuados para utilizarse en Estados Unidos
5. Un mes después de haber salido de la escuela durante el verano, una joven de 16 años presenta fiebre, mialgias y cefalea. Se sabe que está ocurriendo en la población un brote epidémico de una enfermedad con síntomas similares causados por un virus ECHO. El lugar anatómico principal de la multiplicación del virus ECHO en el hospedador humano es
   (A) El sistema muscular
   (B) El sistema nervioso central
   (C) El tubo digestivo
   (D) El sistema sanguíneo y linfático
   (E) El aparato respiratorio
6. ¿Cuáles de las siguientes propiedades de los enterovirus no son compartidas por los rinovirus?
   (A) Genoma de RNA monocatenario
   (B) Producción por desdoblamiento de proteínas virales a partir de un precursor de poliproteína
   (C) Resistencia a solventes lípidos
   (D) Estabilidad en pH ácido (pH 3.0)
   (E) Simetría icosaédrica
7. Una persona con asma padece una exacerbación aguda con incremento de las enfermedades respiratorias inferiores. Se aísla un virus. ¿Cuál de los siguientes tipos de virus muy posiblemente será la cepa?
   (A) Parainfluenza
   (B) Parechovirus
   (C) Rinovirus
   (D) Virus sincitial respiratorio
   (E) Virus ECHO
8. El empleo de la vacuna oral antipoliomielítica con microorganismos vivos se ha remplazado con la vacuna de microorganismos inactivados en muchos países. ¿Cuál de los siguientes es el principal motivo?
   (A) Es más rentable utilizar la vacuna inactivada
   (B) Es mayor el riesgo de enfermedad provocada por la vacuna que la enfermedad provocada por virus natural en zonas donde se ha erradicado el poliovirus
   (C) Es necesaria sólo una sola dosis de la vacuna inactivada en comparación con múltiples dosis de la vacuna oral
   (D) Las cepas de poliovirus circulantes han cambiado y la vacuna de microorganismos vivos ya no es eficaz en muchos países
9. Los brotes de exantema viral de manos, pies y boca, caracterizados por úlceras bucales y exantemas vesiculares, se presentan y pueden producir muertes en el lactante. La enfermedad es causada por
   (A) Virus de la fiebre aftosa de pie y boca
   (B) Virus de la varicela
   (C) Enterovirus que no son de la poliomielitis
   (D) Rinovirus
   (E) Virus de la rubéola
10. Los estudios epidemiológicos indican que un grupo central de enterovirus constantemente circula en Estados Unidos. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es más exacta?
   (A) Los miembros del grupo central muestran un patrón epidémico de brotes de la enfermedad

(B) El grupo comprende alrededor de la mitad de los enterovirus conocidos
(C) La enfermedad ocurre de manera predominante en adolescentes y adultos
(D) Los miembros del grupo se clasifican como virus coxsackie A y B
(E) Este grupo central determina la mayor parte de las enfermedades por enterovirus

Respuestas

1. D	4. A	7. C	10. E
2. E	5. C	8. B	
3. B	6. D	9. C	

BIBLIOGRAFÍA

Chumakov K, Ehrenfeld E: New generation of inactivated poliovirus vaccines for universal immunization after eradication of poliomyelitis. Clin Infect Dis 2008;47:1587. [PMID: 18990066]

Enterovirus surveillance—United States, 1970–2005. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2006;55(SS-8).

Harvala H, Simmonds P: Human parechoviruses: Biology, epidemiology and clinical significance. J Clin Virol 2009;45:1. [PMID: 19372062]

Mahony JB: Detection of respiratory viruses by molecular methods. Clin Microbiol Rev 2008;21:716. [PMID: 18854489]

Pallansch M, Roos R: Enteroviruses: Polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. In: *Fields Virology,* 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Rotbart HA: Antiviral therapy for enteroviruses and rhinoviruses. Antiviral Chem Chemother 2000;11:261. [PMID: 10950388]

Technical Consultative Group to the World Health Organization on the Global Eradication of Poliomyelitis: "Endgame" issues for the global polio eradication initiative. Clin Infect Dis 2002;34:72. [PMID: 11731948]

Turner RB, Couch RB: Rhinoviruses. In: *Fields Virology,* 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Whitton JL, Cornell CT, Feuer R: Host and virus determinants of picornavirus pathogenesis and tropism. Nature Rev Microbiol 2005;3:765. [PMID: 16205710]



CAPÍTULO

37

Reovirus, rotavirus y calicivirus

Los reovirus son virus de tamaño mediano con un genoma de RNA segmentado bicatenario. La familia comprende rotavirus humano, la causa más importante de la gastroenteritis infantil en todo el mundo (fig. 37-1). La gastroenteritis aguda es una enfermedad muy frecuente que tiene una repercusión importante en la salud pública. En los países en vías de desarrollo se estima que causa hasta 1.5 millones de muertes de niños preescolares cada año, de los cuales el rotavirus produce casi 600 000 decesos. En Estados Unidos la gastroenteritis aguda ocupa el segundo lugar después de las infecciones respiratorias agudas como causa de enfermedad en las familias.

Los calicivirus son virus pequeños con un genoma de RNA monocatenario. La familia contiene el virus de Norwalk, la principal causa de la gastroenteritis epidémica no bacteriana en todo el mundo. Los astrovirus también provocan gastroenteritis.

REOVIRUS Y ROTAVIRUS

En el cuadro 37-1 se resumen las propiedades importantes de los reovirus.

Estructura y composición

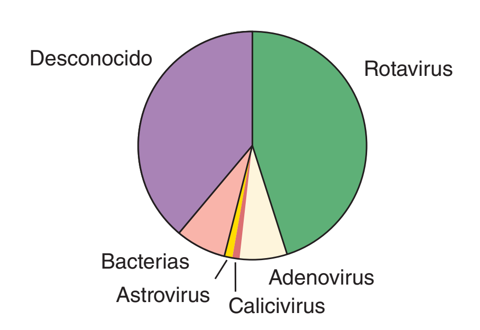
Los viriones miden 60 a 80 nm de diámetro y poseen dos cápsides concéntricas, cada una de las cuales es icosaédrica. (Los rotavirus tienen una estructura de tres capas.) No tienen envoltura. Los virus de una sola capa que carecen de la cápside externa tienen un diámetro de 50 a 60 nm. El centro interno de las partículas tiene un diámetro de 33 a 40 nm (fig. 37-2). La partícula de doble cubierta es la forma infecciosa del virus.

El genoma del reovirus consta de un RNA bicatenario en 10 a 12 segmentos circunscritos con un genoma total de un tamaño de 16 a 27 kbp, lo que depende del género. Los rotavirus contienen 11 segmentos de genoma, en tanto que los ortorreovirus y los orbovirus poseen 10 segmentos y los coltivirus tienen 12 segmentos. Los segmentos de RNA individuales tienen un tamaño variable desde 680 bp (rotavirus) hasta 3 900 bp (ortorreovirus). El centro del virión contiene varias enzimas necesarias para la transcripción y la incorporación del RNA viral en la cápside.

Los rotavirus se mantienen estables ante el calor a una temperatura de 50°C, en un pH de 3.0 a 9.0 y en solventes de lípidos, como éter y cloroformo, pero son inactivados por etanol al 95%, fenol y cloro. El tratamiento limitado con enzimas proteolíticas incrementa la infecciosidad.

Clasificación

La familia **Reoviridae** se divide en 15 géneros. Cuatro de los géneros pueden infectar a seres humanos y animales: *Orthoreovirus, Rotavirus, Coltivirus* y *Orbivirus*. Los géneros pueden dividirse en dos grupos; un grupo contiene virus con grandes





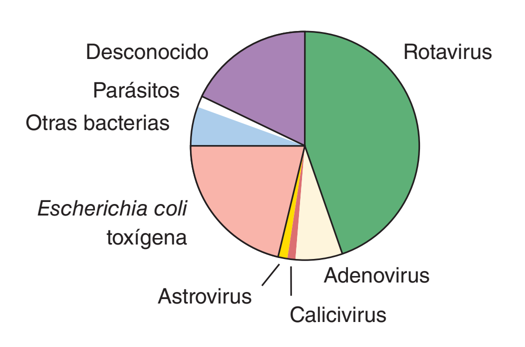


FIGURA 37-1 Una estimación de la participación de microorganismos causantes en las enfermedades diarreicas graves que exigen hospitalización de lactantes y niños pequeños. **A:** En los países desarrollados. **B:** En los países en vías de desarrollo. (Reproducida con autorización de Kapikian AZ: Viral gastroenteritis. JAMA 1993;269:627.)

CUADRO 37-1 Propiedades importantes de los reovirus

Virión:	Icosaédrico, de 60 a 80 nm de diámetro, doble envoltura de la cápside
Composición:	RNA (15%), proteína (85%)
Genoma:	RNA bicatenario, lineal, segmentado (segmentos de 10 a 12); tamaño total del genoma 16 a 27 kbp
Proteínas:	Nueve proteínas estructurales: el centro contiene varias enzimas
Envoltura:	Ninguna (la seudoenvoltura transitoria está presente durante la morfogénesis de la partícula de rotavirus)
Replicación:	Citoplasma; viriones no descubiertos completamente
Características sobresalientes:	El reordenamiento genético ocurre rápidamente Los rotavirus son la causa principal de diarrea infantil Los reovirus son buenos modelos de estudios moleculares de la patogenia viral

espigas en los 12 vértices sobre la partícula (p. ej., *Orthoreovirus*) en tanto que los miembros del segundo grupo tienen un aspecto más liso y carecen de las grandes proyecciones en la superficie (p. ej., *Rotavirus*).

Hay por lo menos cinco especies o grupos de rotavirus (A a E), más dos especies tentativas (F y G), de las cuales tres especies (A, B, C) infectan a seres humanos. Las cepas de origen humano y animal pueden clasificarse bajo el mismo serotipo. Otros grupos y serotipos de rotavirus se encuentran sólo en animales. Se reconocen tres diferentes serotipos de reovirus, junto con unos 100 diferentes serotipos de orbivirus y dos serotipos de coltivirus.

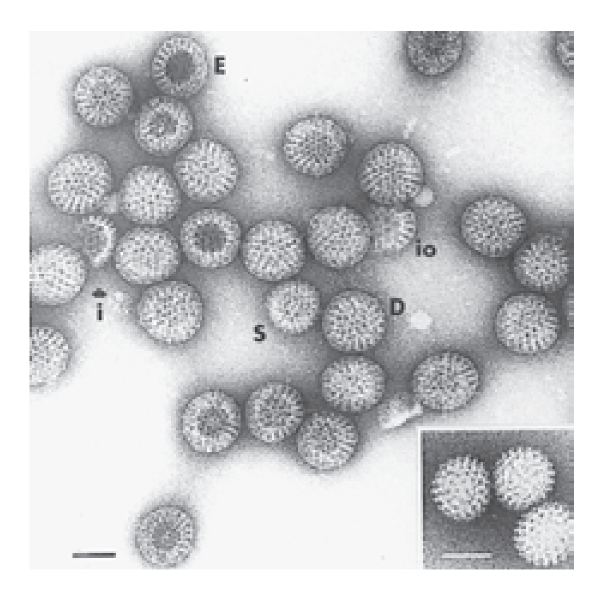


FIGURA 37-2 Microfotografía electrónica de una preparación de rotavirus humano con tinción negativa. (D, partículas de doble envoltura; E, cápsides vacías; i, fragmento de la envoltura interna; io, fragmentos de una combinación de envoltura interna y externa; S, partículas de envoltura simple.) **Recuadro:** Partículas de una sola envoltura obtenidas mediante tratamiento de la preparación viral con sulfato de dodecilo sódico. Barras, 50 nm. (Cortesía de J Esparza y F Gil.)

Replicación de reovirus

Las partículas virales se adhieren a receptores específicos en la superficie celular (fig. 37-3). La proteína de adherencia celular para los reovirus es la hemaglutinina viral (proteínas σ1), un componente menor de la cápside externa.

Tras la adherencia y penetración, ocurre la pérdida de la envoltura de las partículas virales en los lisosomas del citoplasma celular. Sólo se retira la cubierta externa del virus y se activa una RNA transcriptasa relacionada con el centro. Esta transcriptasa transcribe moléculas de mRNA de la tira negativa de cada segmento de RNA bicatenario del genoma que contiene el centro intacto. Hay secuencias terminales cortas en los dos extremos de los segmentos de RNA que están conservadas en todas las cepas de un determinado subgrupo. Estas secuencias conservadas pueden ser señales de reconocimiento para la transcriptasa viral. Las moléculas de mRNA funcional corresponden en tamaño a los segmentos de genoma. La mayor parte de los segmentos de RNA codifican una sola proteína, aunque algunos (dependiendo del virus) codifican dos proteínas. Los centros de los reovirus contienen todas las enzimas necesarias para la transcripción, la incorporación en la cápside y extrusión de los mRNA del centro, dejando en el interior segmentos de genoma de RNA bicatenario.

Una vez que experimentan extrusión desde el centro, los mRNA son traducidos en productos génicos primarios. Algunos de los transcritos de longitud completa son incorporados en la cápside para formar partículas virales inmaduras. Una replicasa viral interviene en la síntesis de tiras de polaridad negativa para formar los segmentos de genoma bicatenarios. Esta replicación para formar RNA bicatenario se presenta en estructuras centrales parcialmente completadas. Los mecanismos que aseguran el ensamble del complemento correcto de los segmentos de genoma para formar un centro viral en desarrollo se desconocen. Sin embargo, el reordenamiento del genoma ocurre rápidamente en células infectadas simultáneamente por diferentes virus del mismo subgrupo, lo que da origen a partículas virales que contienen segmentos de RNA de diferentes cepas progenitoras. Los polipéptidos virales probablemente se autoensamblan para formar las cápsides interna y externa.

Los reovirus producen cuerpos de inclusión en el citoplasma en el cual se encuentran las partículas virales. Estas fábricas virales están íntimamente relacionadas con las estructuras tubulares (microtúbulos y filamentos intermedios). La morfogénesis del rotavirus consiste en la gemación de partículas de una sola capa en el retículo endoplásmico rugoso. Las "seudoenvolturas" que se adquieren así son luego retiradas y se añaden las cápsides externas (fig. 37-3). Esta vía inusual se utiliza debido a que la principal proteína de la cápside externa de los rotavirus es glucosilada.

La citólisis produce la liberación de viriones de progenie.

ROTAVIRUS

Los rotavirus son una causa importante de diarrea en lactantes humanos y en animales pequeños, incluidos terneras y lechones. Las infecciones en adultos humanos y en animales también son frecuentes. Entre los rotavirus están los que producen la diarrea infantil humana, la diarrea de la ternera de Nebraska, la diarrea epizoótica de los ratones lactantes y el virus SA11 de los monos.

Los rotavirus se parecen a los reovirus por sus características morfológicas y mecanismos de replicación.

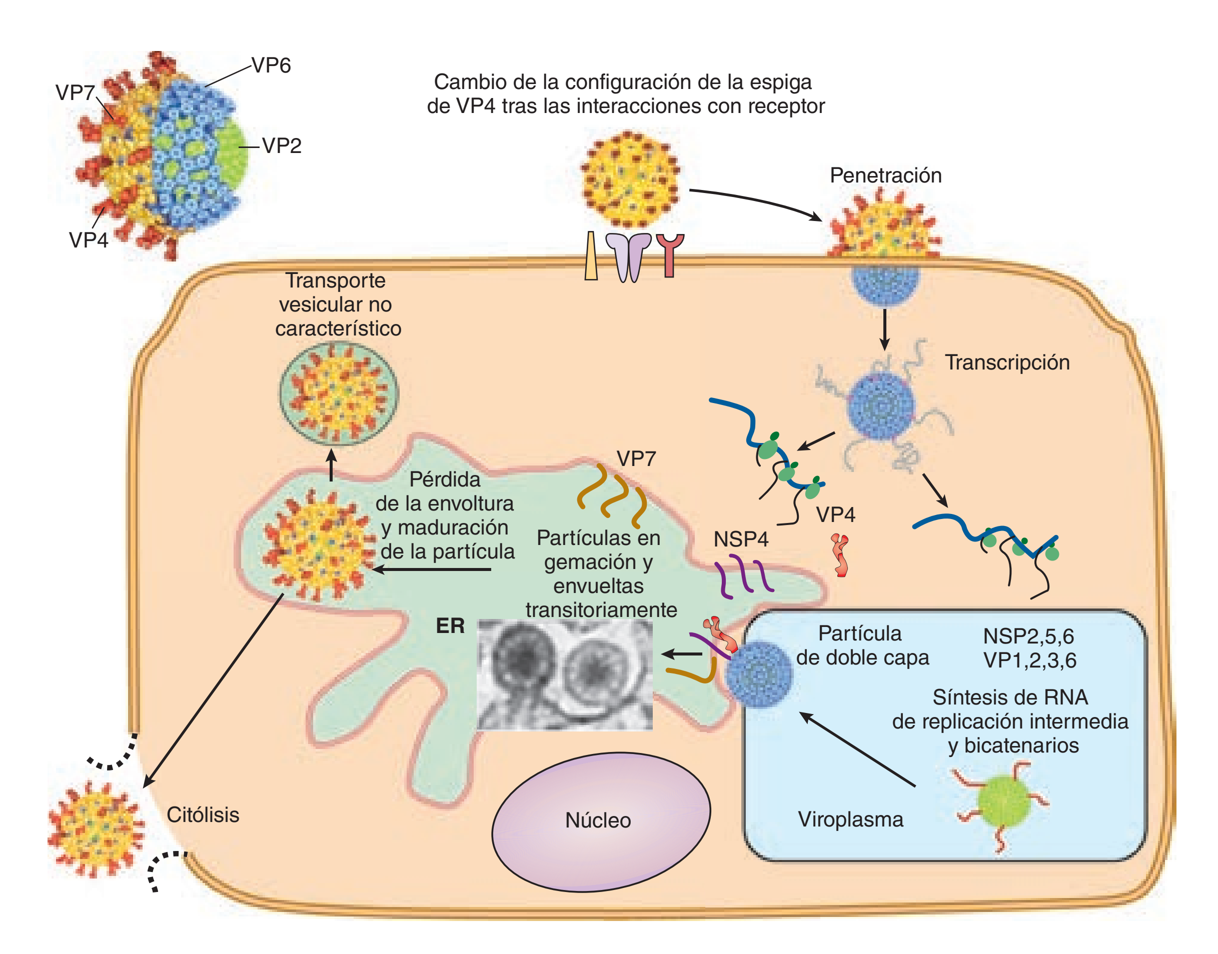


FIGURA 37-3 Generalidades del ciclo de replicación del rotavirus. (Cortesía de MK Estes.)

Clasificación y propiedades antigénicas

Los rotavirus se han clasificado en cinco especies (A a E) más dos especies tentativas (F y G), basándose en epitopos antigénicos presentes en la proteína estructural interna VP6. Éstos se pueden detectar mediante inmunofluorescencia, ELISA y microscopia inmunoelectrónica (IEM, *immune electron microscopy*). Los rotavirus del grupo A son los virus patógenos humanos más frecuentes. Las proteínas de la cápside externa VP4 y VP7 portan epitopos que son importantes en la actividad neutralizante, de manera que la glucoproteína VP7 es el antígeno predominante. Estos antígenos específicos se distinguen entre los rotavirus y son demostrables mediante análisis Nt. Cinco serotipos son la causa de la mayor parte de las enfermedades humanas. Las distribuciones de los serotipos muestran diferencias geográficas. Se han identificado múltiples serotipos en rotavirus humanos y animales. Algunos rotavirus animales y humanos comparten especificidad de serotipo. Por ejemplo, el virus del mono SA11 es antigénicamente muy similar al serotipo 3 humano. Las asignaciones codificadoras de gen que intervienen en las especificidades estructurales y antigénicas de las proteínas de rotavirus se muestran en la figura 37-4.

Los estudios epidemiológicos moleculares han analizado cepas basándose en las diferencias en la migración de los 11 segmentos del genoma tras la electroforesis de RNA en geles de poliacrilamida (fig. 37-5). Estas diferencias en los electroferotipos se pueden utilizar para diferenciar a los virus del grupo A de otros grupos, pero no se pueden emplear para predecir los serotipos.

Susceptibilidad de animales

Los rotavirus tienen una amplia gama de hospedadores. La mayor parte de las cepas se ha obtenido de animales recién nacidos con diarrea. Las infecciones cruzadas pueden presentarse en inoculaciones experimentales pero no está claro si ocurren en la naturaleza. Los rotavirus porcinos infectan a lechones recién nacidos y destetados. Los recién nacidos a menudo muestran una infección leve, lo cual tal vez se debe a presencia de anticuerpo materno, en tanto que en los animales destetados es más frecuente la enfermedad manifiesta.

Propagación en el cultivo celular

Los rotavirus son virus difíciles de cultivar. La mayor parte de los rotavirus humanos del grupo A pueden cultivarse si se tratan antes con la enzima proteolítica tripsina y si se incluyen bajas concentraciones de tripsina en el medio de cultivo del tejido. Esto desdobla una proteína de la cápside externa y facilita la pérdida de la envoltura. Se han cultivado muy pocas cepas de rotavirus que no pertenecen al grupo A.

Patogenia

Los rotavirus infectan las células de las vellosidades del intestino delgado (respetan la mucosa gástrica y la colónica). Se multiplican en el citoplasma de enterocitos y lesionan sus mecanismos de transporte. Una de las proteínas codificadas por rotavirus, la NSP4, es

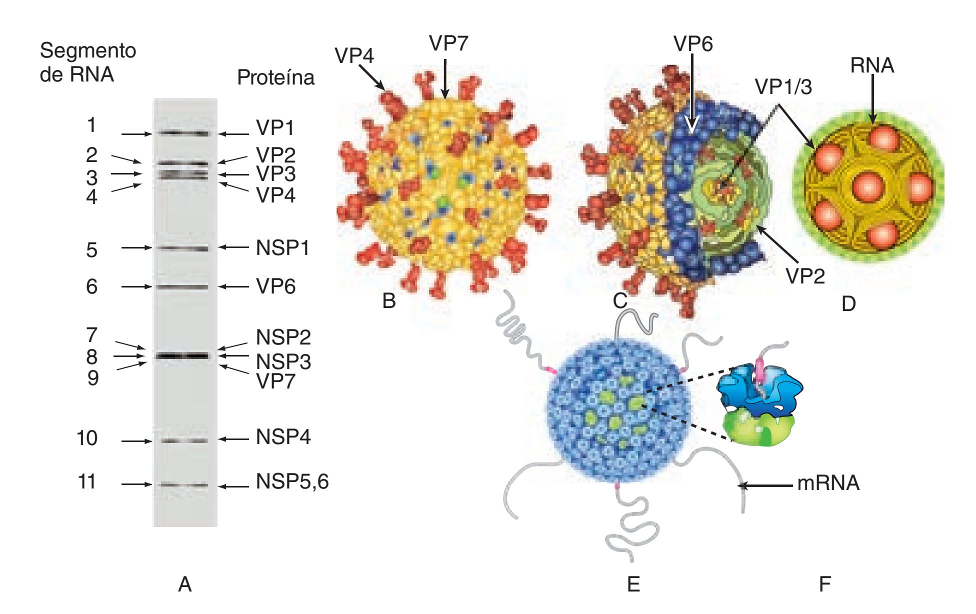


FIGURA 37-4 Estructura de rotavirus. **A:** Diagrama de gel que muestra los 11 segmentos del genoma. Las proteínas estructurales (VP) y no estructurales (NSP) codificadas por estos segmentos están señaladas. **B:** Representación de la superficie de la estructura del rotavirus en el análisis criomicroscopia electrónica. Las dos proteínas de la capa externa son VP4, que forma las espigas, y VP7, que forma la capa de la cápside. **C:** Vista recortada que muestra la organización del virión en tres capas, con la capa VP6 intermedia y la capa VP2 más interna señaladas. Las enzimas necesarias para la transcripción endógena (VP1) y la encapsidación (VP3) están unidas como complejos heterodiméricos en la superficie interna de la capa de VP2. **D:** Se ilustra mediante esferas la organización propuesta del genoma de RNA bicatenario en el interior de la capa de VP2 con complejos enzimáticos de transcripción (VP1/3). **E:** Salida de transcritos de los canales en los vértices de cinco tantos de partículas de doble capa en transcripción activa. **F:** Acercamiento de uno de los canales de salida. (Cortesía de BVV Prasad.)

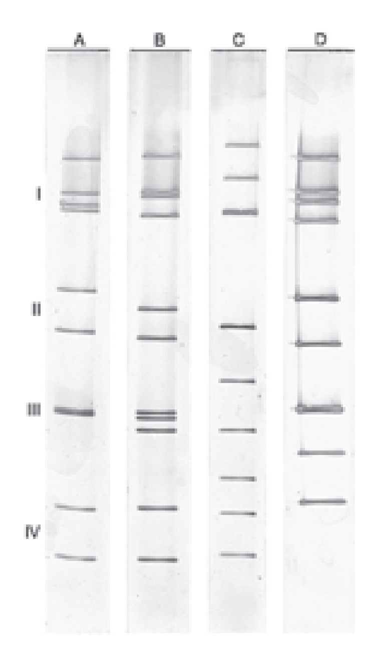


FIGURA 37-5 Electroforetogramas de segmentos de RNA de rotavirus. Los RNA virales fueron sometidos a electroforesis en geles de poliacrilamida al 10% y se visualizaron mediante tinción de plata. Se ilustran diferentes grupos de rotavirus y patrones de RNA: un virus de simio del grupo A (SA11); fila A), un rotavirus humano del grupo A (fila B), un virus de la diarrea del adulto humano del grupo B (fila C) y un virus del conejo del grupo A que muestra un patrón de RNA "corto" (fila D). Los rotavirus contienen 11 segmentos de RNA de genoma, pero a veces dos o tres segmentos emigran muy cerca entre sí y son difíciles de separar. (Fotografía proporcionada por T Tanaka y MK Estes.)

una enterotoxina viral que activa la secreción al desencadenar una vía de transducción de señal. Las células lesionadas se desprenden hacia la luz del intestino y liberan grandes cantidades de virus, que aparecen en las heces (hasta 10^{12} partículas por gramo de heces). La excreción viral suele persistir durante 2 a 12 días en pacientes por lo demás sanos pero puede prolongarse en individuos desnutridos. En ocasiones la diarrea por rotavirus se debe a alteraciones de la absorción de sodio y glucosa a medida que las células lesionadas en las vellosidades son remplazadas por células inmaduras de las criptas que no absorben. El establecimiento de la función puede tardar tres a ocho semanas.

Manifestaciones clínicas y diagnóstico de laboratorio

Los rotavirus causan la mayor parte de las enfermedades diarreicas en los lactantes y niños en todo el mundo pero no en los adultos (cuadro 37-2). Hay un periodo de incubación de uno a tres días. Los síntomas característicos consisten en diarrea líquida, fiebre, dolor abdominal y vómito, lo que desencadena deshidratación.

En los lactantes y en los niños, la pérdida grave de electrólitos y líquidos puede ser mortal si no se trata. Los pacientes con casos más leves manifiestan síntomas durante tres a ocho días y luego se restablecen por completo. Sin embargo, la excreción viral en las heces puede persistir hasta por 50 días después de iniciada la diarrea. Se presentan infecciones asintomáticas, con seroconversión. En los niños con inmunodeficiencias, el rotavirus puede causar una enfermedad grave y prolongada.

Los contactos adultos pueden infectarse, según se pone de manifiesto por la seroconversión, pero pocas veces manifiestan síntomas, y el virus no es detectado con frecuencia en sus heces.

CUADRO 37-2 Virus relacionados con la gastroenteritis aguda en seres humanos[a]

Virus	Tamaño (nm)	Epidemiología	Importante como causa de hospitalización
Rotavirus			
Grupo A	60 a 80	Causa individual más importante (viral o bacteriana) de enfermedad diarreica grave endémica en los lactantes y niños pequeños en todo el mundo (en los meses más fríos y en los climas templados)	Sí
Grupo B	60 a 80	Brotes epidémicos de enfermedad diarreica en adultos y en niños en China	No
Grupo C	60 a 80	Casos esporádicos y brotes epidémicos esporádicos de enfermedad diarreica en los niños	No
Adenovirus intestinales	70 a 90	Segundo virus más importante como causa de la enfermedad diarreica endémica de lactantes y niños pequeños en todo el mundo	Sí
Calicivirus			
Norwalk	27 a 40	Causa importante de brotes de vómito y enfermedad diarreica en niños mayores y adultos en familias, poblaciones e instituciones; a menudo relacionadas con ingestión de alimentos	No
Sapporo	27 a 40	Casos y brotes esporádicos de diarrea en lactantes, niños pequeños y ancianos	No
Astrovirus	28 a 30	Casos y brotes esporádicos de diarrea en lactantes, niños pequeños y ancianos	No

Fuente: Kapikian AZ. Viral gastroenteritis. JAMA 1993;269:627.

Una fuente frecuente de infección es el contacto con casos infantiles. Sin embargo, han ocurrido epidemias de enfermedad grave en los adultos, sobre todo, en poblaciones cerradas, como en las salas geriátricas. Los rotavirus del grupo B han sido implicados en grandes brotes epidémicos de gastroenteritis grave en adultos en China (cuadro 37-2).

El diagnóstico de laboratorio se basa en la demostración del virus en las heces obtenidas en las primeras etapas de la enfermedad y en la elevación del título de anticuerpos. El virus en las heces se demuestra mediante enzimoinmunoanálisis (EIA) o microscopia inmunoelectrónica (IEM). La prueba de EIA es más sensible que la de IEM. El método de detección más sensible es la genotipificación del ácido nucleico del rotavirus obtenido de muestras de heces mediante reacción en cadena de la polimerasa. Se pueden utilizar las pruebas serológicas para detectar una elevación del título de anticuerpo, sobre todo ELISA.

Epidemiología e inmunidad

Los rotavirus son la causa más importante en todo el mundo de gastroenteritis en niños pequeños. Se estiman entre 3 000 y 5 000 millones de episodios de diarrea anuales en los niños menores de cinco años de edad en África, Asia y Latinoamérica, lo que produce hasta un millón de decesos. Los países desarrollados tienen una elevada tasa de morbilidad pero una baja tasa de mortalidad. Es característico que hasta 50% de los casos de gastroenteritis aguda en niños hospitalizados en todo el mundo se deba a rotavirus.

Las infecciones por rotavirus suelen predominar durante la temporada de invierno. Las infecciones sintomáticas son más frecuentes en los niños de entre seis meses y dos años de edad y la transmisión al parecer es por la vía fecal-oral. Las infecciones intrahospitalarias son frecuentes.

Los rotavirus son ubicuos. Hacia los tres años de edad, 90% de los niños tiene anticuerpos séricos contra uno o más tipos. Esta alta prevalencia de anticuerpos contra rotavirus se mantiene en los adultos, lo que señala reinfecciones asintomáticas por el virus. Las reinfecciones por rotavirus son frecuentes; se ha demostrado que los niños pequeños pueden sufrir hasta cinco reinfecciones a los dos años de edad. Las infecciones asintomáticas son más frecuentes con las reinfecciones sucesivas. Los factores inmunitarios locales, como la IgA secretora o el interferón, pueden ser importantes para proteger contra la infección por rotavirus. Las infecciones asintomáticas son frecuentes en los lactantes antes de los seis meses de edad, el tiempo durante el cual debieran estar presentes los anticuerpos maternos protectores que los recién nacidos adquirieron en forma pasiva. Tal infección neonatal no evita la reinfección, pero protege contra la aparición de la enfermedad grave durante la reinfección.

Tratamiento y control

El tratamiento de la gastroenteritis es sintomático, para corregir la pérdida de agua y electrólitos que pueden desencadenar deshidratación, acidosis, choque y muerte del paciente. El tratamiento consiste en la reposición de líquidos y el restablecimiento del equilibrio electrolítico por vía intravenosa o por vía oral, como sea factible. La mortalidad infrecuente por diarrea infantil en los países desarrollados se debe al uso sistemático del tratamiento de reposición eficaz.

En vista de la vía de transmisión fecal-oral, el tratamiento de las aguas residuales y las mejoras en las condiciones sanitarias son medidas de control importantes.

En Estados Unidos en 1998 se autorizó una vacuna de rotavirus vivos atenuados sintetizada en macaco, la cual se administra por vía oral para los lactantes. Se retiró del comercio un año después debido a informes de invaginación intestinal (bloqueos del intestino) como un efecto secundario infrecuente pero importante relacionado con la vacuna. En 2006, en Estados Unidos se autorizó una vacuna contra rotavirus, bovina, pentavalente

que se administra por vía oral, seguida de la autorización de una vacuna humana de rotavirus, monovalente, que se administra por vía oral. Ninguna de las vacunas al parecer se relaciona con invaginación intestinal. Una vacuna segura y eficaz sigue siendo la mejor esperanza para reducir la morbilidad de la infección por rotavirus en todo el mundo.

REOVIRUS

Se sabe que los virus de este género, que se han estudiado muy meticulosamente por biólogos moleculares, no producen enfermedad humana.

Clasificación y propiedades antigénicas

Los reovirus son ubicuos y hay una amplia gama de hospedadores mamíferos, aviares y reptiles. Se han aislado tres tipos de reovirus diferentes pero relacionados que se han obtenido de muchas especies y se han demostrado mediante las pruebas Nt y HI. Los reovirus contienen una hemaglutinina para eritrocitos O humanos o bovinos.

Epidemiología

Los reovirus causan muchas infecciones no manifiestas, ya que la mayoría de las personas tiene anticuerpos séricos al inicio de la edad adulta. Los anticuerpos también están presentes en otras especies. Se han aislado los tres tipos en niños sanos, en niños pequeños durante brotes de enfermedad febril leve, en niños con enteritis o enfermedades respiratorias leves y en chimpancés con rinitis epidémica.

Los estudios en voluntarios humanos no han logrado demostrar una relación de causa y efecto clara entre los reovirus y la infección humana. En voluntarios inoculados, se aíslan reovirus con mucha más facilidad en las heces que en la nariz o en la garganta.

Patogenia

Los reovirus se han convertido en sistemas de modelos importantes para el estudio de la patogenia de la infección viral a nivel molecular. Se utilizan recombinaciones definidas de dos reovirus con diferentes fenotipos patógenos para infectar a los ratones. Luego se utiliza el análisis de segregación para relacionar las características específicas de la patogenia con genes virales específicos y productos génicos. Las propiedades patógenas de los reovirus se determinan principalmente por la especie de proteína que se encuentra en la cápside externa del virión.

ORBIVIRUS Y COLTIVIRUS

Los orbivirus son un género en la familia de los reovirus. Suelen infectar insectos y muchos son transmitidos por los insectos a los vertebrados. Se conocen alrededor de 100 serotipos. Ninguno de estos virus causa enfermedad clínica importante en el ser humano, pero pueden ser causa de fiebres leves. Los virus patógenos en animales más importantes son el virus de la fiebre catarral ovina y el virus de la enfermedad equina africana. Se detectan anticuerpos contra orbivirus en muchos vertebrados, incluidos los seres humanos.

El genoma consta de 10 segmentos de RNA bicatenario, con un tamaño de genoma total de 18 kbp. El ciclo de replicación es similar al de los reovirus. Los orbivirus son sensibles al pH bajo, en contraste con la estabilidad general de otros reovirus.

Los coltivirus forman otra especie dentro de los **Reoviridae**. Su genoma consta de 12 segmentos de RNA bicatenario, que suman un total de casi 29 kbp. El virus de la fiebre por garrapata de Colorado, transmitido por las garrapatas puede infectar al ser humano.

CALICIVIRUS

Además de los rotavirus y los adenovirus no cultivables, los miembros de la familia **Caliciviridae** son virus importantes de la gastroenteritis viral en el ser humano. El miembro más importante es el virus de Norwalk. En el cuadro 37-3 se resumen las propiedades de los calicivirus.

Clasificación y propiedades antigénicas

Los calicivirus son similares a los picornavirus pero son un poco más grandes (27 a 40 nm) y contienen una sola proteína estructural mayor (fig. 37-6). Muestran una morfología distintiva en el microscopio electrónico (fig. 37-7). La familia Caliciviridae se divide en cuatro géneros: *Norovirus,* que incluye a los virus de Norwalk; *Sapovirus,* que comprende los virus tipo Sapporo; *Lagovirus,* el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo; y *Vesivirus,* que comprende el virus del exantema vesicular de los cerdos, el calicivirus de los felinos y los virus marinos que se detectan en pinípedos, ballenas y peces. Los primeros dos géneros contienen virus humanos que no se pueden cultivar; los últimos dos géneros contienen sólo cepas de animales que pueden cultivarse *in vitro*. En 1995 se introdujo en Australia el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo como un microorganismo de control biológico para reducir la población de conejos silvestres en el país.

CUADRO 37-3 Propiedades importantes de los calicivirus

Virión: Icosaédrico, 27 a 40 nm de diámetro, depresiones caliciformes en la superficie de la cápside
Genoma: RNA monocatenario, lineal, de sentido positivo, no segmentado; tamaño de 7.4 a 8.3 kB; contiene genoma unido a proteínas (UPg)
Proteínas: Polipéptidos desdoblados a partir de una poliproteína precursora; la cápside está compuesta por una sola proteína
Envoltura: Ninguna
Replicación: Citoplasma
Características sobresalientes: Los norovirus son la causa principal de gastroenteritis epidémica no bacteriana Los virus humanos no son cultivables

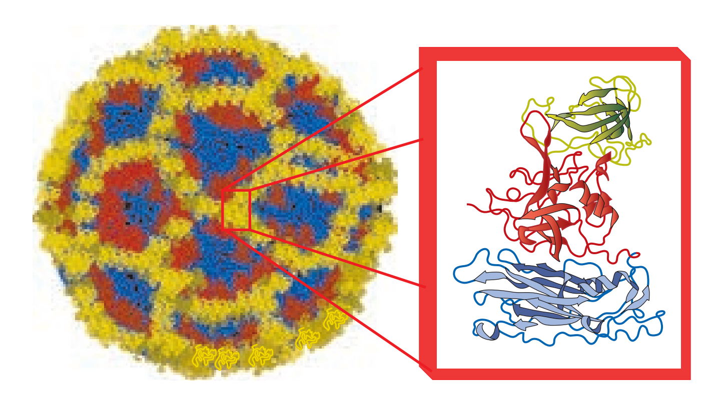


FIGURA 37-6 Estructura de rayos X de la cápside del virus de Norwalk (*izquierda*). Se ilustra la estructura de la subunidad de la cápside (*cuadro de la derecha*). Los dominios de S, P1 y P2 están sombreados en gris oscuro, gris mediano y gris claro, respectivamente. (Cortesía de B V V Prasad.)

No están definidos los serotipos de calicivirus humano. Se han detectado múltiples genotipos de norovirus. Tres genogrupos se relacionan con la gastroenteritis humana.

Manifestaciones clínicas y diagnóstico de laboratorio

Los norovirus (virus de Norwalk) son la causa más importante de gastroenteritis viral epidémica en los adultos (cuadro 37-2). La gastroenteritis no bacteriana epidémica se caracteriza por: 1) ausencia de bacterias patógenas; 2) gastroenteritis con instauración y restablecimiento rápidos y signos sistémicos relativamente leves, y 3) un patrón epidemiológico de una enfermedad muy transmisible que se disemina con rapidez y que no tiene una predisposición específica por lo que respecta a edad o geografía. Se han utilizado diversos términos descriptivos en los informes de diferentes brotes epidémicos (p. ej., gastroenteritis viral epidémica, diarrea viral, enfermedad de vómito invernal), lo que depende de manifestaciones clínicas predominantes.

La gastroenteritis viral de Norwalk tiene un periodo de incubación de 24 a 48 h. La instauración es rápida y la evolución clínica es breve, dura 12 a 60 h; los síntomas consisten en diarrea, náusea, vómito, febrícula, cólicos, cefalea y ataque al estado general. La enfermedad puede ser discapacitante durante la fase sintomática, pero pocas veces es necesaria la hospitalización. Las infecciones por norovirus tienen más posibilidades de desencadenar vómito que las producidas por los virus tipo Sapporo. La deshidratación es la complicación más frecuente en niños pequeños y en ancianos. La eliminación del virus puede persistir hasta por un mes. No se han comunicado secuelas.

Los experimentos en voluntarios claramente han demostrado que la aparición del virus de Norwalk coincide con la enfermedad clínica. Se presenta el anticuerpo durante la enfermedad y suele ser protector a corto plazo contra la reinfección por el mismo microorganismo. La inmunidad a largo plazo no corresponde bien con los anticuerpos séricos presentes. Algunos voluntarios se pueden reinfectar con el mismo virus después de casi dos años.

La reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa es la técnica que más ampliamente se utiliza para detectar calicivirus humanos en muestras clínicas (heces, vómito) y muestras ambientales (alimento contaminado, agua). Dada la diversidad genética en las cepas circulantes, es muy importante la selección del par de cebadores para la reacción en cadena de la polimerasa.

A menudo se utiliza la microscopia electrónica para detectar partículas de virus en muestras de heces. Sin embargo, las partículas de norovirus suelen presentarse en bajas concentraciones y son difíciles de reconocer; se deben identificar mediante IEM. Los inmunoanálisis con ELISA basados en partículas virales recombinantes permiten detectar respuestas de anticuerpos, con una elevación de cuatro veces o más en el título de anticuerpo IgG en los sueros de fases aguda y convaleciente indicativos de una infección reciente. Sin embargo, no se dispone en todas partes de los reactivos necesarios y los antígenos no pueden detectar las respuestas a todos los tipos antigénicos de norovirus.

Epidemiología e inmunidad

Los calicivirus humanos tienen una distribución mundial. Los norovirus son la causa más frecuente de gastroenteritis no bacteriana en Estados Unidos y producen alrededor de 23 millones de casos cada año.

Los virus muy a menudo se relacionan con los brotes epidémicos de gastroenteritis transmitida por el agua, los alimentos y los mariscos. Es posible que se presenten brotes en la población en cualquier temporada. Pueden afectar a todos los grupos de edad. Ocurren brotes epidémicos durante todo el año con un pico estacional durante los meses más fríos. La mayor parte de los brotes implica la transmisión en los alimentos o de persona a persona a través de los fómites o la formación de aerosoles de líquidos corporales contaminados (vómito, materia fecal).

Las características de los norovirus son una baja dosis infecciosa (un mínimo de 10 partículas virales), la estabilidad relativa en el medio ambiente y múltiples mecanismos de transmisión. Sobrevive en cloro a 10 ppm y a temperaturas de 60°C; se puede mantener en los ostiones al vapor.

La diseminación fecal-oral probablemente es el principal medio de transmisión del virus de Norwalk. Durante un periodo de cinco años en Estados Unidos (1996 a 200), se inculpó a los alimentos en 39% de los brotes de gastroenteritis por el virus de Norwalk, al contacto interpersonal en 12% y al agua en 3%, y de origen desconocido en 18%. Entre todos los brotes de enfermedad transmitida en los alimentos en Estados Unidos (1998 a 2002), norovirus produjo 30%. El personal enfermo que trabaja en servicios de alimentos a menudo interviene en los brotes de infección por norovirus.

Los virus, predominantemente los norovirus, intervinieron en 10% de los brotes de enfermedad transmitida por el agua relacionada con fines recreativos en Estados Unidos (2003 a 2004).

Los brotes de gastroenteritis por el virus de Norwalk se presentan en múltiples circunstancias. De 1996 a 2000, 39% se presentó en restaurantes, 29% en asilos y hospitales, 12% en escuelas y guarderías, 10% en centros vacacionales, incluso en cruceros y 9% en otros ámbitos. En 2006, después del huracán Katrina, se presentó un brote epidémico de norovirus en un albergue atestado de personas evacuadas en Texas.

No se dispone de ningún análisis de neutralización *in vitro* para estudiar la inmunidad. Los estudios de provocación en voluntarios han demostrado que casi 50% de los adultos es susceptible a la enfermedad. El anticuerpo del virus de Norwalk se adquiere a una mayor edad que el anticuerpo contra rotavirus, el cual aparece en las primeras etapas de la infancia. En los países

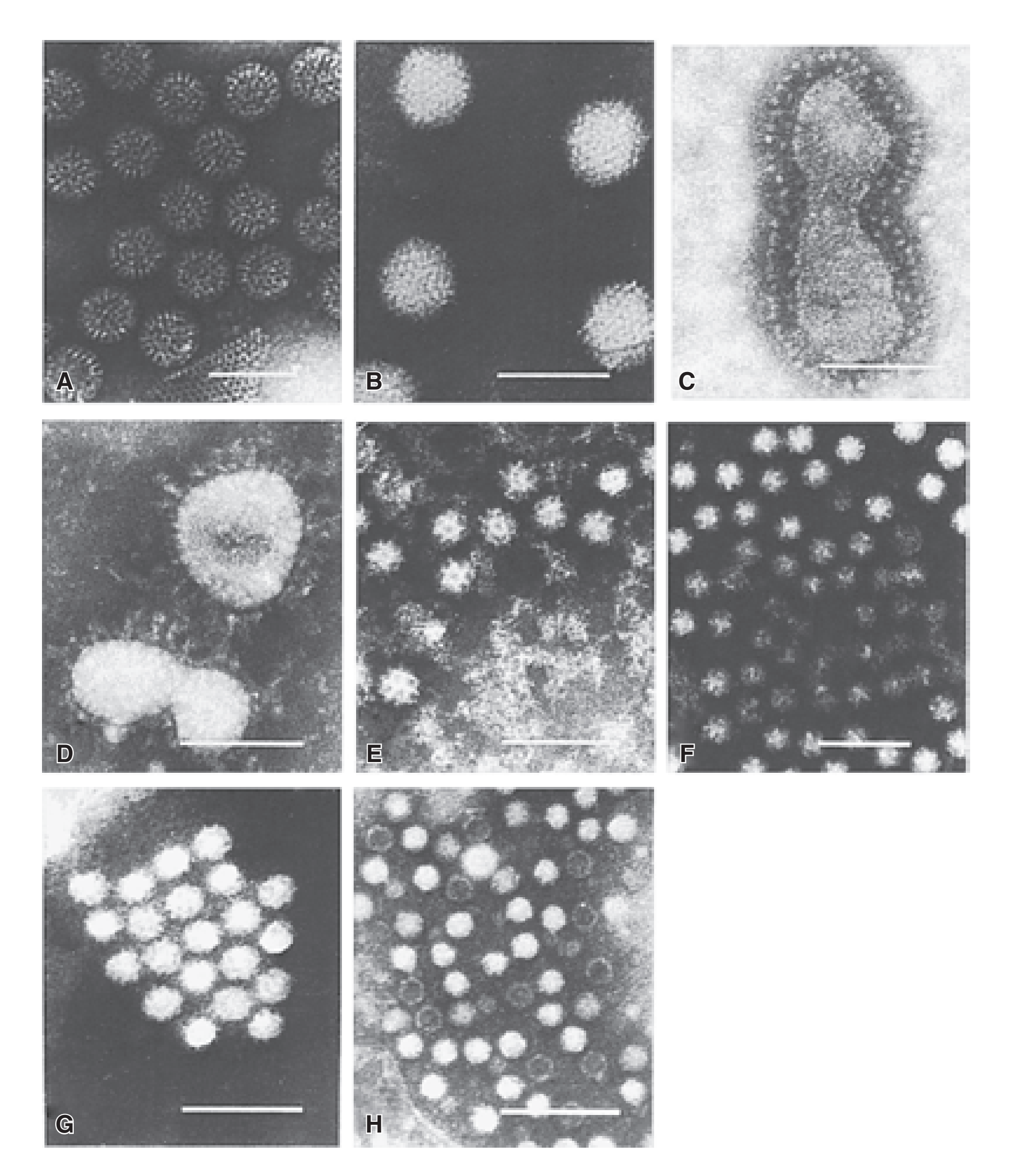


FIGURA 37-7 Microfotografía electrónica de partículas de virus que se encuentran en las heces de pacientes con gastroenteritis. Estos virus fueron visualizados después de la tinción negativa. Los virus específicos de las amplificaciones originales de las microfotografías son los siguientes. **A:** Rotavirus (185 000 ×). **B:** Adenovirus entérico (234 000×). **C:** Coronavirus (249 000×). **D:** Torovirus (coronavirus) (249 000×). **E:** Calicivirus (250 000×). **F:** Astrovirus (196 000×). **G:** Virus de Norwalk (calicivirus) (249 000×). **H:** Parvovirus (249 000×). Las microfotografías electrónicas en los cuadros C a H fueron proporcionadas originalmente por T Flewett; el cuadro E fue obtenido originalmente de CR Madeley. Barras, 100 nm. (Reproducida con autorización de Graham DY, Estes MK: Viral infections of the intestine. En *Principles and Practice Gastroenterology and Hepatology*. Gitnick G et al. [editors]. Elsevier Science Co., 1988;566.)

en vías de desarrollo la mayoría de los niños ha formado anticuerpos contra norovirus a los cuatro años de edad.

Tratamiento y control

El tratamiento es sintomático. La baja dosis infecciosa permite la transmisión eficiente del virus. Dadas las características infecciosas de las heces, se debe tener cuidado en su eliminación. El lavado eficaz de las manos permite reducir la transmisión en el ámbito familiar o institucional. La contención y desinfección de zonas contaminadas y de la ropa de cama ayudan a disminuir la diseminación viral. Es importante el procesamiento cuidadoso de los alimentos así como la educación de las personas que manipulan alimentos, ya que ocurren muchos brotes transmitidos por los alimentos. La purificación del agua de beber y el agua de piscinas debiera disminuir los brotes de norovirus. No se dispone de ninguna vacuna.

ASTROVIRUS

Los astrovirus tienen un diámetro de casi 28 a 30 nm y muestran una forma estrellada distintiva en el microscopio electrónico (fig. 37-7). Contienen RNA monocatenario de polaridad positiva, de 6.4 a 7.4 kb de tamaño. La familia Astroviridae incluye dos géneros; todos los virus humanos se clasifican en el género *Mamastrovirus.* Se reconocen por lo menos ocho serotipos de virus humanos mediante IEM y neutralización.

Los astrovirus causan enfermedad diarreica y pueden eliminarse en cantidades extraordinariamente grandes en las heces. Los virus son transmitidos por la vía fecal-oral a través del alimento o el agua contaminados, el contacto interpersonal o las superficies contaminadas. Se reconocen como microorganismos patógenos en lactantes y niños, ancianos internados en asilos y personas inmunodeficientes (cuadro 37-2). Se pueden eliminar por periodos prolongados por los hospedadores inmunodeprimidos.

Se detectan astrovirus animales en diversos mamíferos y aves y en tiempos recientes se han identificado en varias especies de murciélagos.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un varón de 36 años disfrutó una comida de ostiones crudos. Veinticuatro horas más tarde se enfermó presentando bruscamente vómito, diarrea y cefalea. La causa más probable de su gastroenteritis es
   (A) Astrovirus
   (B) Virus de la hepatitis A
   (C) Virus de Norwalk
   (D) Rotavirus del grupo A
   (E) Virus ECHO
2. Este virus es la causa más importante de gastroenteritis en los lactantes y niños pequeños. Produce infecciones que suelen ser graves y que pueden ser letales, sobre todo en los lactantes.
   (A) Virus ECHO
   (B) Virus de Norwalk
   (C) Rotavirus del grupo A
   (D) Orbivirus
   (E) Parvovirus
3. Se presentó un brote de gastroenteritis epidémica en un campo de verano boscoso 24 h después de una fiesta para las familias visitantes. Algunos de los padres visitantes también se enfermaron. Se obtuvieron muestras dos semanas más tarde del pozo que era la fuente del agua para beber en el campo y resultaron negativas para coliformes fecales. El origen más probable del brote epidémico fue
   (A) Mosquitos o garrapatas, presentes en gran cantidad en la zona
   (B) Alimento contaminado que se sirvió en la fiesta
   (C) Un arroyo cercano utilizado para pesca
   (D) Un padre visitante que estaba presentando neumonía
   (E) La piscina
4. Este virus causante de la gastroenteritis tiene un genoma de RNA bicatenario y una cápside de doble capa. ¿A cuál familia de virus corresponde?
   (A) Adenoviridae
   (B) Astroviridae
   (C) Caliciviridae
   (D) Reoviridae
   (E) Coronaviridae
5. Los rotavirus y el virus de Norwalk son virus diferentes. Sin embargo, ¿cuál de las siguientes características comparten?
   (A) Transmisión por la vía fecal-oral
   (B) Son la causa principal de la enfermedad en los lactantes y en los niños pequeños
   (C) Provocan por lo general enfermedad leve en los niños pequeños
   (D) Los patrones de infección no muestran ninguna variación estacional
   (E) Un genoma de RNA bicatenario
6. Puesto que las infecciones por rotavirus pueden ser graves, sería útil una vacuna. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es la más correcta en torno a la vacuna contra rotavirus?
   (A) En Estados Unidos está autorizada (2008) una vacuna de rotavirus humano muerto del grupo A
   (B) Se retiró una vacuna de virus vivos atenuados debido a informes de invaginación intestinal (1998)
   (C) La aparición de la vacuna se complica por la rápida variación antigénica por el virus
   (D) Los antivirales disponibles hacen que la vacuna sea innecesaria
   (E) El desarrollo de la vacuna se complica porque no se puede desarrollar el virus en el cultivo celular
7. Los rotavirus y los astrovirus comparten diversas características. ¿Cuál de las siguientes no comparten?
   (A) Existen múltiples serotipos
   (B) Pueden causar gastroenteritis en lactantes y niños
   (C) Pueden causar gastroenteritis en pacientes ancianos internados en asilos
   (D) Vacuna de virus vivos disponible
   (E) La vía de transmisión es fecal-oral

Respuestas

1. C	3. B	5. A	7. D
2. C	4. D	6. B	

BIBLIOGRAFÍA

Bresee JS, Nelson EA, Glass RI (guest editors): Rotavirus in Asia: Epidemiology, burden of disease, and current status of vaccines. J Infect Dis 2005;192(Suppl 1). [Entire issue.]

Dennehy PH: Rotavirus vaccines: An overview. Clin Microbiol Rev 2008;21:198. [PMID: 18202442]

Estes MK, Kapikian AZ: Rotaviruses. In: *Fields Virology,* 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Green KY: *Caliciviridae*: The noroviruses. In: *Fields Virology,* 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Monroe SS, Ando T, Glass RI (guest editors): International Workshop on Human Caliciviruses. J Infect Dis 2000;181(Suppl 12). [Entire issue.]

Prevention of rotavirus among infants and children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2006;55(RR-12):1.

Prevention of rotavirus gastroenteritis among infants and children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2009;58(RR-2).

WHO position paper: Rotavirus vaccines. World Health Org Wkly Epidemiol Record 2007;82:285.



CAPÍTULO 38

Enfermedades virales transmitidas por artrópodos y roedores

Los **virus transmitidos por artrópodos** (arbovirus) y **roedores** representan agrupamientos ecológicos virales con ciclos de transmisión complejos en los que intervienen dichos grupos de invertebrados y vertebrados. Estos virus tienen diversas propiedades físicas y químicas y se clasifican en varias familias de virus.

Los arbovirus y los virus transmitidos por roedores se clasifican entre las familias **Arenaviridae**, **Bunyaviridae**, **Flaviviridae**, **Reoviridae** y **Togaviridae**. Los virus de la fiebre hemorrágica africana se clasifican en la familia **Filoviridae** (cuadro 38-1, fig. 38-1). Diversas enfermedades descritas aquí se consideran enfermedades infecciosas emergentes (véase el cap. 29).

Los arbovirus son transmitidos por los artrópodos que succionan sangre de un hospedador vertebrado a otro. El vector adquiere una infección de por vida a través de la ingestión de la sangre de un vertebrado virémico. Los virus se multiplican en los tejidos del artrópodo sin señales de enfermedad o daño. Algunos arbovirus se mantienen en la naturaleza por la transmisión transovárica en los artrópodos.

Las principales enfermedades por arbovirus en todo el mundo son fiebre amarilla, dengue, encefalitis B japonesa, de St. Louis, equina occidental, equina oriental, rusa de la primavera y el verano, y fiebres del Nilo Occidental y por la mosca de la arena. En Estados Unidos las infecciones por arbovirus más importantes son la encefalitis de La Crosse, la fiebre del Nilo Occidental y las encefalitis de St. Louis, equina oriental y equina occidental.

Las enfermedades virales transmitidas por roedores se mantienen en la naturaleza gracias a la transmisión directa dentro de la misma especie (intraespecífica) o entre especies diferentes (interespecífica) de roedores sin la participación de vectores artrópodos. La infección viral suele ser persistente, la transmisión ocurre por el contacto con los líquidos o excreciones del cuerpo.

Las principales enfermedades virales transmitidas por los roedores son las infecciones por hantavirus, fiebre de Lassa y las fiebres hemorrágicas sudamericanas. En Estados Unidos, las enfermedades más importantes transmitidas por roedores son el síndrome pulmonar por hantavirus y la fiebre por la garrapata de Colorado. También se consideran aquí las fiebres hemorrágicas africanas (de Marburg y Ébola). Se desconocen sus hospedadores (reservorios), pero se sospecha que son roedores o murciélagos.

INFECCIONES POR ARBOVIRUS HUMANOS

Existen varios centenares de arbovirus de los cuales unos 100 se sabe que son patógenos en el ser humano. Los que infectan al ser humano se cree que son zoonóticos y que el ser humano es un hospedador accidental sin ninguna función importante en el mantenimiento o la transmisión del ciclo del virus. Son excepciones la fiebre amarilla urbana y el dengue. Algunos de los ciclos naturales son simples e implican la infección de un hospedador vertebrado no humano (mamífero o ave) transmitido por una especie de mosquito o garrapata (p. ej., fiebre amarilla en la selva, fiebre de la garrapata de Colorado). Sin embargo, otros son más complejos. Por ejemplo, la encefalitis transmitida por la garrapata puede presentarse tras la ingestión de leche cruda de cabras y vacas infectadas al pastar en lugares infestados por garrapatas donde se presenta un ciclo de garrapata-roedor.

Los virus individuales a veces se denominaban con base en la enfermedad que causaban (p. ej., dengue, fiebre amarilla) o por la zona geográfica donde se aislaron inicialmente (encefalitis de St. Louis, fiebre del Nilo Occidental). Los arbovirus se encuentran en todas las zonas templadas y tropicales, pero predominan más en los trópicos donde abundan animales y artrópodos.

Las enfermedades producidas por los arbovirus pueden clasificarse en tres síndromes clínicos; a saber: 1) fiebres de tipo indiferenciado con o sin un exantema maculopapuloso y por lo general benignas; 2) encefalitis (inflamación del cerebro) a menudo con una tasa de mortalidad elevada, y 3) fiebres hemorrágicas, también a menudo graves y mortales. Estas categorías son un poco arbitrarias y algunos arbovirus pueden relacionarse con más de un síndrome, por ejemplo, el dengue.

El grado de multiplicación viral y su lugar predominante de ubicación en los tejidos determinan el síndrome clínico. Por consiguiente, los arbovirus individuales pueden producir una enfermedad febril leve en algunos pacientes y encefalitis o una diátesis hemorrágica en otros.

Las infecciones por arbovirus se presentan en distribuciones geográficas distintivas y tipos de vectores (fig. 38-2). Cada continente tiene su propio tipo de arbovirus y los nom-

CUADRO 38-1 **Clasificación y propiedades de algunos virus transmitidos por artrópodos y roedores**

Taxonomía	Arbovirus importantes y miembros de virus transmitidos por roedores	Propiedades de los virus
Arenaviridae		
Género *Arenavirus*	Nuevo Mundo: Guanarito, Junin, Machupo, Sabia y Arroyo de Whitewater. Virus del Viejo Mundo: de Lassa y de la coriomeningitis linfocítica. Transmitidos por roedores	Esférico, de 50 a 300 nm de diámetro (media de 110 a 130 nm). Genoma: RNA monocatenario, de doble segmentación, de polaridad negativa y bipolaridad, de 10 a 14 kb de tamaño global. El virión contiene una transcriptasa. Cuatro polipéptidos principales. Envoltura, replicación: citoplasma. Ensamble: incorpora ribosomas y produce gemación desde la membrana plasmática
Bunyaviridae		
Género *Orthobunyavirus*	Anófeles A y B, virus Bunyamwera, de la encefalitis de California, Guama, La Crosse, Oropouche y de Turlock. Transmitidos por artrópodos (mosquitos)	Esférico, de 80 a 120 nm de diámetro. Genoma: triple segmentado, de polaridad negativa o bipolaridad, RNA monocatenario, 11 a 19 kb de tamaño total. El virión contiene una transcriptasa. Cuatro polipéptidos principales. Envoltura. Replicación: citoplasma. Ensamble: gemación hacia el aparato de Golgi
Género *Hantavirus*	Virus de Hantaan (fiebre hemorrágica coreana), virus de Seúl (fiebre hemorrágica con síndrome renal). Virus sin nombre (síndrome pulmonar por hantavirus). Transmitido por roedores	
Género *Nairovirus*	Fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, fiebre de los corderos de Nairobi y virus de Sakhalin. Transmitido por artrópodos (garrapatas)	
Género *Phlebovirus*	Virus de la fiebre del Valle de Rift, fiebre de la mosca de la arena (*Phlebotomus*) y Uukuniemi. Transmitidos por artrópodos (mosquitos, moscas de la arena, garrapatas)	
Filoviridae		
Género *Marburgvirus*	Virus de Marburg	Filamentos largos, de 80 nm de diámetro y longitud variable (>10 000 nm), aunque la mayor parte tiene un promedio aproximado de 1 000 nm. Genoma: RNA de polaridad negativa, no segmentado, monocatenario, de 19 kb de tamaño. Siete polipéptidos. Envoltura. Replicación: citoplasma. Ensamble: gemación de la membrana plasmática
Género *Ebolavirus*	Virus de Ébola	
Flaviviridae		
Género *Flavivirus*	Virus de encefalitis brasileña (virus de Rocio), del dengue, de la encefalitis japonesa B, enfermedad de la selva de Kyasanur, encefalitis ovina, encefalitis del Valle de Murray, fiebre hemorrágica de Omsk, encefalitis rusa de la primavera y el verano, encefalitis de St. Louis, encefalitis transmitida por la garrapata, fiebre del Nilo Occidental y virus de la fiebre amarilla. Transmitidos por artrópodos (mosquitos, garrapatas)	Esférico, de 40 a 60 nm de diámetro. Genoma: polaridad positiva, RNA monocatenario, de 11 kb de tamaño. RNA de genoma infeccioso. Envoltura. Tres polipéptidos estructurales, dos glucosilados. Replicación: citoplasma. Ensamble: en el retículo endoplásmico. Todos los virus están relacionados serológicamente
Reoviridae		
Género *Coltivirus*	Virus de la fiebre de la garrapata de Colorado. Transmitidos por artrópodos (garrapatas, mosquitos)	Esférico, de 60 a 80 nm de diámetro. Genoma: 10 a 12 segmentos de RNA lineal bicatenario, de 16 a 27 kbp de tamaño total. Sin envoltura. Diez a 12 polipéptidos estructurales. Replicación y ensamble: citoplasma (véase el cap. 37)
Género *Orvivirus*	Virus de la enfermedad del caballo africano y de la lengua azul. Transmitidos por artrópodos (mosquitos)	
Togaviridae		
Género *Alphavirus*	Virus de Chikungunya, de la encefalitis equina oriental, occidental y venezolana, virus de Mayaro, de O'Nyong-nyong, del Río Ross, de la selva de Semliki y de Sindbis. Transmitidos por artrópodos (mosquitos)	Esférico, de 70 nm de diámetro, la nucleocápside tiene 42 capsómeros. Genoma: RNA de polaridad positiva, monocatenario, de 11 a 12 kb de tamaño. Envoltura. Tres o cuatro polipéptidos estructurales importantes, dos glucosilados. Replicación: citoplasma. Ensamble: gemación en todas las membranas de la célula hospedadora. Todos los virus están relacionados serológicamente

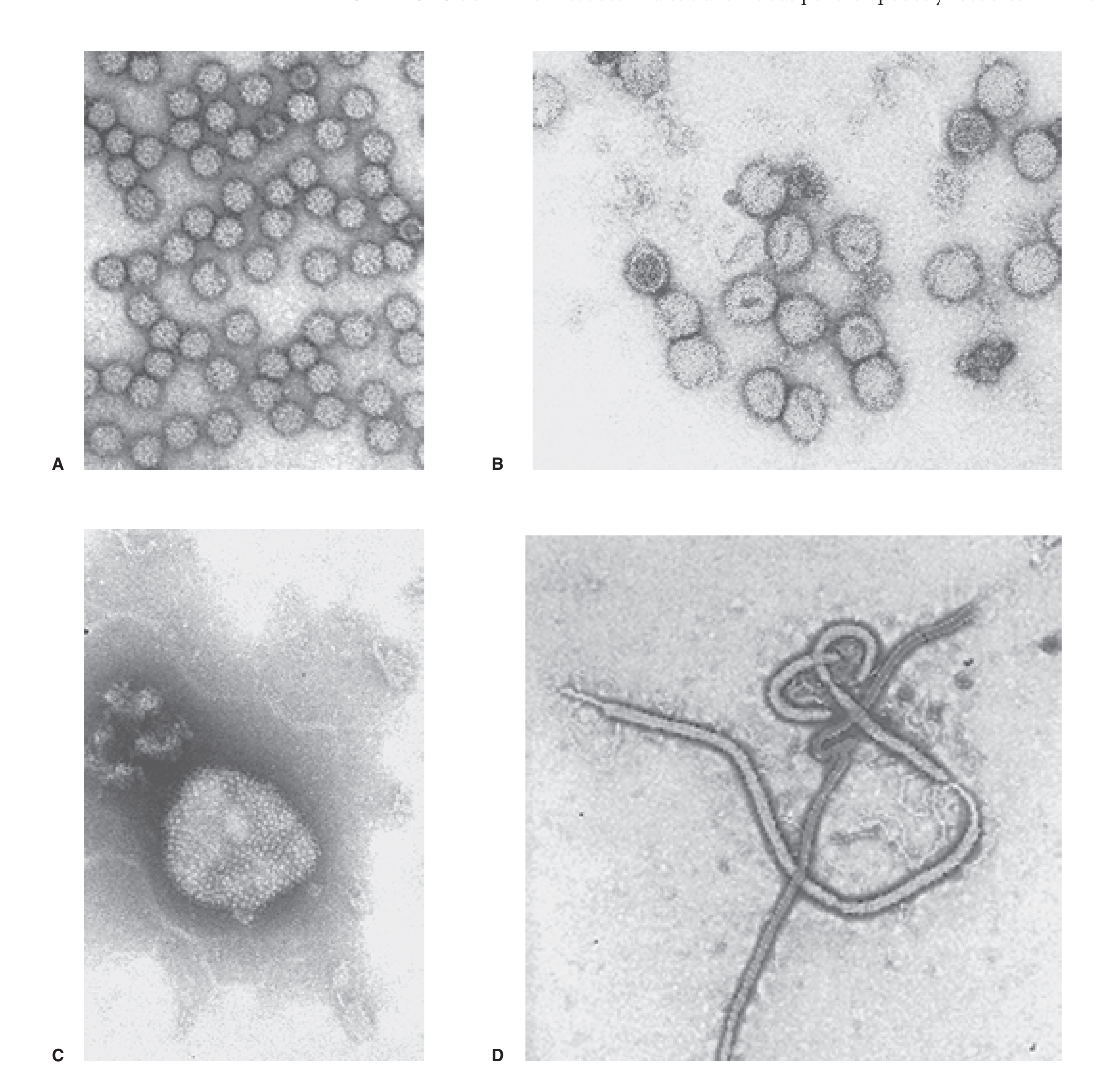


FIGURA 38-1 Microfotografías electrónicas de arbovirus característicos y virus transmitidos por roedores. **A:** Un virus α. Virus del bosque de Semliki (Togaviridae). **B:** Un miembro representativo de la familia Bunyaviridae, el virus de Uukuniemi. **C:** Un arenavirus, virus de Tacaribe (Arenaviridae). **D:** Virus de Ébola (Filoviridae). (Cortesía de FA Murphy y EL Palmer.)

bres suelen ser sugestivos, por ejemplo, la encefalitis equina venezolana, la encefalitis B japonesa, la encefalitis del Valle de Murray (Australia).

Muchas encefalitis son infecciones por alfavirus y flavivirus diseminadas por mosquitos, aunque el grupo de las encefalitis de California se deben a bunyavirus. En un determinado continente puede haber una distribución cambiante, lo que depende de los hospedadores virales y los vectores en un determinado año.

Varios arbovirus producen infecciones humanas importantes en Estados Unidos (cuadro 38-2). El número de casos varía mucho de un año a otro.

ENCEFALITIS POR TOGAVIRUS Y FLAVIVIRUS

Clasificación y propiedades de los togavirus y los flavivirus

En la familia Togaviridae, el género *Alphavirus* consta de unos 30 virus de 70 nm de diámetro que poseen un genoma de RNA monocatenario de cadena positiva (cuadro 38-1). La envoltura que rodea a la partícula contiene dos glucoproteínas. Los alfavirus suelen establecer infecciones persistentes en los mosquitos y

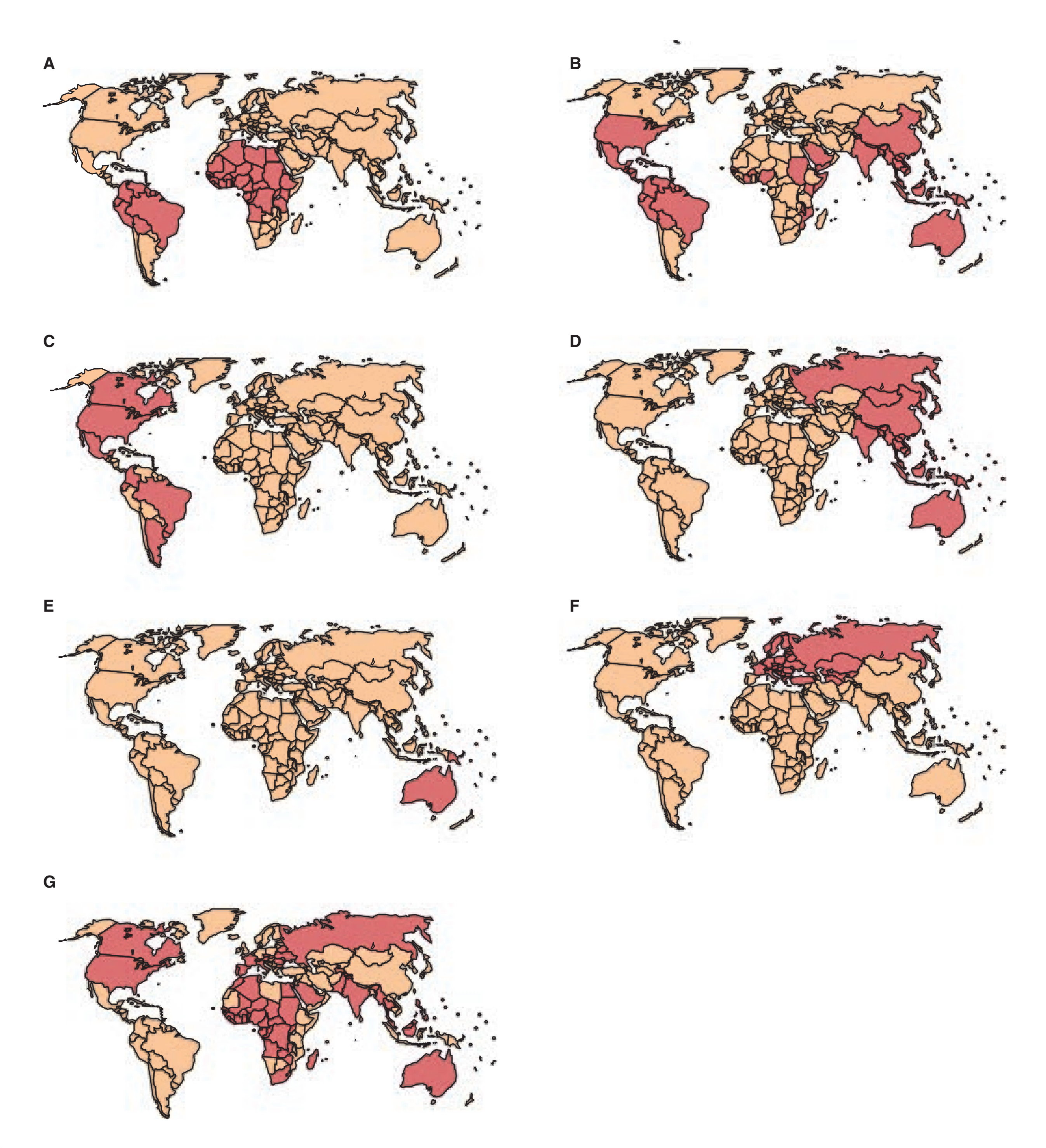


FIGURA 38-2 Distribuciones conocidas de flavivirus que producen enfermedad humana. **A:** Virus de la fiebre amarilla. **B:** Virus del dengue. **C:** Virus de la encefalitis de St. Louis. **D:** Virus de la encefalitis japonesa B. **E:** Virus de la encefalitis del Valle de Murray. **F:** Virus de la encefalitis transmitida por garrapatas. **G:** Virus del Nilo Occidental. (Reproducida con autorización de Monath TP, Tsai TF: Flaviviruses. En: *Clinical Virology,* 2a. Ed. Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG [editors]. ASM Press, 2002.)

son transmitidos entre los vertebrados por los mosquitos u otros artrópodos que se alimentan de sangre. Tienen distribución mundial. Todos los alfavirus tienen relación antigénica. Los virus son inactivados por un pH ácido, calor, solventes lípidos, detergentes, blanqueadores, fenol, alcohol a 70% y formaldehído. La mayor parte posee capacidad hemaglutinante (fig. 38-1). El virus de la rubéola, clasificado en un género separado en la familia Togaviridae no tiene vector artrópodo y no es un arbovirus (cap. 40).

Los arbovirus pertenecen al género *Flavivirus* en la familia Flaviviridae. Al principio, los flavivirus fueron incluidos en la familia togavirus como "arbovirus del grupo B", pero fueron desplazados a una familia diferente por diferencias en la organización del genoma. La familia Flaviviridae consta de unos 70 virus de 40 a 60 nm de diámetro que tienen un genoma de RNA monocatenario de cadena positiva. La envoltura viral contiene dos glucoproteínas. Algunos flavivirus son transmitidos entre los vertebrados por mosquitos y garrapatas, en tanto que otros

CUADRO 38-2 Resumen de infecciones humanas importantes por virus transmitidos por arbovirus y roedores que ocurren en Estados Unidos

Enfermedades[a]	Exposición	Distribución	Vectores principales	Cociente de casos de infección (incidencia de edad)	Secuelas[b]	Tasa de mortalidad
Encefalitis equina oriental (*Alphavirus*)	Rural	Atlántico, costa del sur	*Aedes, Culex*	10:1 (lactantes) 50:1 (edad mediana) 20:1 (ancianos)	+	30 a 70%
Encefalitis equina occidental (*Alphavirus*)	Rural	Pacífico, montañas, suroeste	*Culex tarsalis, Aedes*	50:1 (menos de 5) 1 000:1 (más de 15)	+	3 a 7%
Encefalitis equina venezolana (*Alphavirus*)	Rural	Sur (también Sudamérica y Centroamérica)	*Aedes, Psorophora Culex*	25:1 (menos de 15) 1 000:1 (más de 15)	±	Decesos infrecuentes
Encefalitis de St. Louis (*Flavivirus*)	Urbana-rural	Dispersa	*Culex*	800:1 (menos de 9) 400:1 (9-59) 85:1 (más de 60)	±	3 a 10% (menos de 65) 30% (más de 65)
Fiebre del Nilo Occidental (*Flavivirus*)	Urbana-rural	Dispersa	*Culex, Aedes, Anopheles*	150:1	Desconocidas	3 a 15%
Encefalitis de California (La Crosse) (*Orthobunyavirus*)	Rural	Norcentral, Atlántico, sur	*Aedes triseriatus*	Cociente desconocido (la mayor parte de los casos en menos de 20)	Infrecuentes	Alrededor de 1%
Síndrome pulmonar por hantavirus (*Hantavirus*)	Rural	Suroeste, occidente	*Peromyscus maniculatus*[c]	Desconocido	Desconocidas	30%
Fiebre de la garrapata de Colorado (*Coltivirus*)	Rural	Pacífico, montañas	*Dermacentor andersoni*	Cociente desconocido (todas las edades son afectadas)	Infrecuentes	Decesos infrecuentes

[a]Mostrado entre paréntesis bajo el nombre de la enfermedad aparece el género en el cual se clasifican los virus causantes. Las familias de los virus están indicadas y descritas en el cuadro 38-1.

[b]Secuelas: +, frecuentes: ±, esporádicas.

[c]Portador roedor.

son transmitidos entre roedores o murciélagos sin ningún insecto vector conocido. Muchos tienen una distribución mundial. Todos los flavivirus tienen una relación antigénica. Los flavivirus son inactivados también al alfavirus y muchos también muestran una capacidad de hemaglutinación. El virus de la hepatitis C, clasificado en un género diferente en la familia Flaviviridae, no tiene un vector artrópodo y no es un arbovirus (cap. 35).

Replicación de togavirus y flavivirus

El genoma de RNA del alfavirus es de cadena positiva (fig. 38-3). La longitud genómica y los mRNA subgenómicos (26S) se producen durante la transcripción. El transcrito de longitud genómica produce una poliproteína precursora que codifica las proteínas no estructurales (es decir, replicasa, transcriptasa) necesarias para la replicación de RNA viral. El mRNA subgenómico codifica a las proteínas estructurales. Las proteínas son elaboradas por desdoblamiento postraduccional. Los alfavirus se replican en el citoplasma y maduran mediante nucleocápsides en gemación a través de la membrana plasmática. Los datos de la secuencia indican que el virus de la encefalitis equina occidental es una recombinación genética de virus de la encefalitis equina oriental y de Sindbis.

El genoma de RNA del flavivirus también es de cadena positiva. Una proteína precursora de gran tamaño es producida por mRNA de longitud del genoma durante las replicaciones virales; es desdoblada por proteasas virales y del hospedador para generar todas las proteínas virales, tanto las estructurales como las no estructurales. Los flavivirus se replican en el citoplasma y ocurre el ensamble de partículas en las vesículas intracelulares (fig. 38-4). La proliferación de las membranas intracelulares es una característica de las células infectadas por flavivirus.

Propiedades antigénicas de togavirus y flavivirus

Todos los alfavirus están relacionados antigénicamente. Debido a las determinantes antigénicas comunes, los virus muestran reacciones cruzadas en las técnicas inmunodiagnósticas. Las pruebas HI, ELISA e IF definen ocho complejos antigénicos o serogrupos de alfavirus, cuatro de los cuales están tipificados por

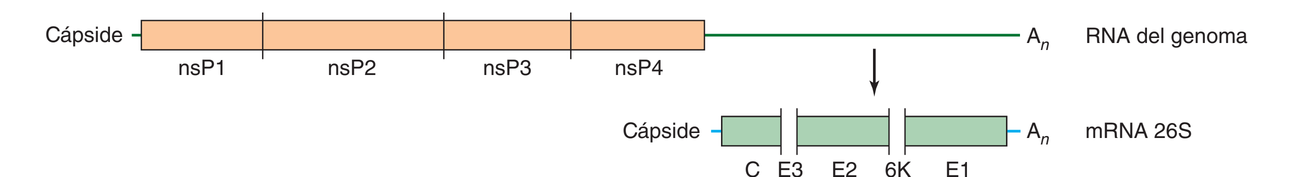


FIGURA 38-3 Organización genómica de los virus α. Las proteínas no estructurales (nsP) están traducidas del RNA genómico como una poliproteína que es concentrada en cuatro proteínas no estructurales por una proteasa viral presente en nsP2. Las proteínas estructurales se traducen de un mRNA 26S subgenómico como una poliproteína que es procesada por una combinación de proteasas virales y celulares hacia una proteína de la cápside (C), tres glucoproteínas de envoltura (E3, E2 y E1) y una proteína asociada a la membrana 6K. C, E2 y E1 son los principales componentes de los viriones y están sombreados en la figura. (Reproducida con autorización de Strauss JH, Strauss EG, Kuhn RJ: Budding of alphaviruses. Trends Microbiol 1995;3:346.)

las encefalitis equina occidental, equina oriental, equina venezolana y por el virus de la selva de Semliki. La identificación de un virus específico puede lograrse utilizando las pruebas de Nt. Asimismo, todos los flavivirus comparten lugares antigénicos. Se han identificado por un mínimo de ocho complejos antigénicos basándose en las pruebas de Nt. La proteína de la envoltura (E) es la hemaglutinina viral y contiene las determinantes de grupo, serocomplejas y específicas de tipo. Las comparaciones de la secuencia del gen de la glucoproteína E muestran que los virus en un serocomplejo comparten más de 70% de las secuencias de aminoácido, en tanto que la homología de aminoácidos a través de los serocomplejos es menos que 50%.

Patogenia y anatomía patológica

En los hospedadores vertebrados susceptibles, la multiplicación viral primaria ocurre en las células mieloides y linfoides o en el endotelio vascular. La multiplicación en el sistema nervioso central depende de la capacidad del virus para cruzar la barrera hematoencefálica e infectar las células nerviosas. En la infección natural de aves y mamíferos, es habitual una infección asintomática. Por varios días ocurre una viremia y los vectores artrópodos adquieren el virus al succionar la sangre durante este periodo: el primer paso en su diseminación a otros hospedadores.

La enfermedad en los animales de experimentación permite aclarar múltiples aspectos de la enfermedad en seres humanos. Se han utilizado ratones para estudiar la patogenia de la encefalitis. Tras la inoculación subcutánea, la replicación del virus ocurre en los tejidos locales y en los ganglios linfáticos regionales. El virus entra luego en la circulación sanguínea y se disemina. Dependiendo del compuesto específico, los diferentes tejidos respaldan más la replicación del virus, lo que comprende monocitos-macrófagos, células endoteliales, pulmón, hígado y músculos. El virus cruza la barrera hematoencefálica por me-

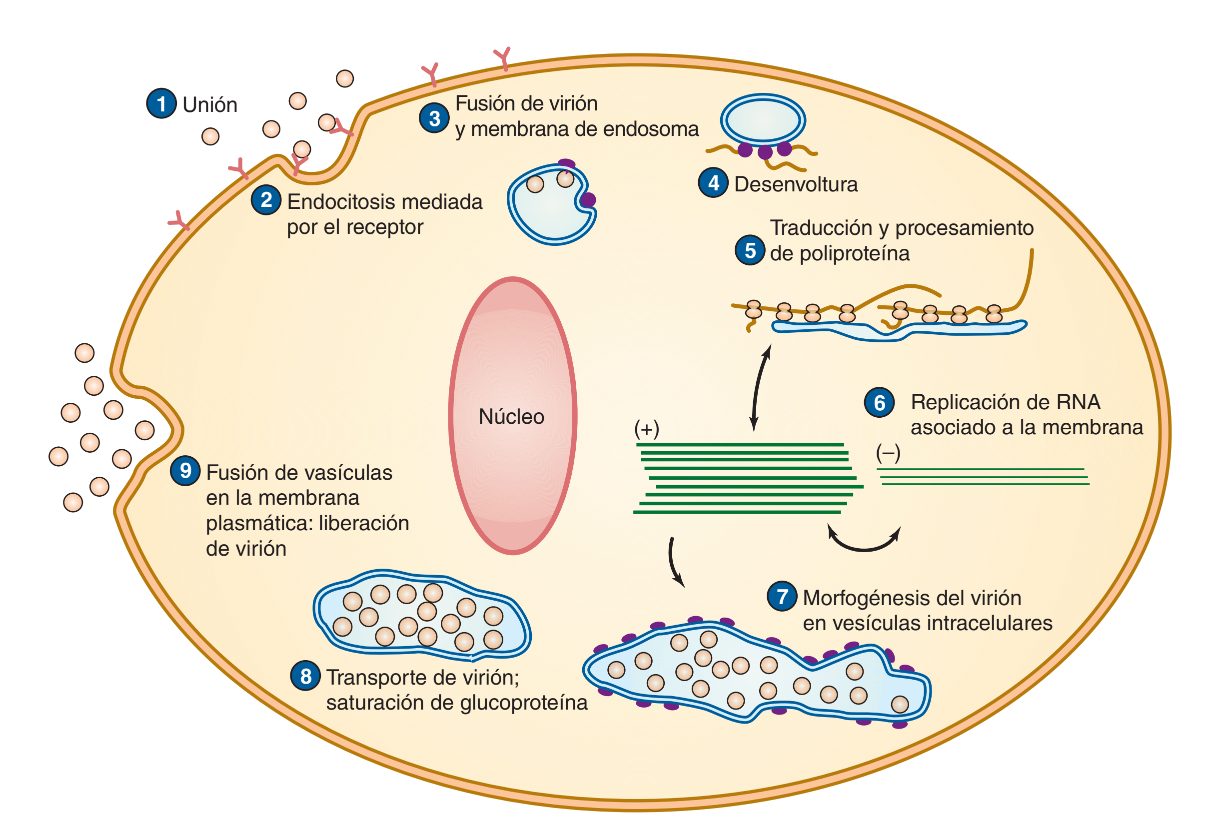


FIGURA 38-4 El ciclo de vida de los flavivirus. (Cortesía de CM Rice.)

canismos desconocidos, que tal vez afectan neuronas olfativas o células vasculares del cerebro y se disemina. La degeneración neuronal dispersa ocurre en todas las encefalitis provocadas por arbovirus.

En la mayor parte de las infecciones, el virus se controla antes que ocurra la invasión neurológica. La invasión depende de muchos factores, como el grado de viremia, los antecedentes genéticos y respuestas inmunitarias innatas y adaptativas del hospedador, así como de la virulencia de la cepa del virus. Los seres humanos muestran una susceptibilidad dependiente de la edad a las infecciones del sistema nervioso central; los lactantes y los ancianos son los más susceptibles.

Las encefalitis equinas en los caballos son difásicas. En la primera fase (enfermedad leve), el virus se multiplica en tejido no neural y está presente en la sangre varios días antes de los primeros signos de afectación del sistema nervioso central. En la segunda fase (enfermedad mayor) el virus se multiplica en el cerebro, las células son lesionadas y destruidas y la encefalitis se vuelve clínicamente manifiesta. Se necesitan altas concentraciones de virus en el tejido cerebral antes que se dé tal manifestación.

Manifestaciones clínicas

Los periodos de incubación de las encefalitis fluctúan entre cuatro y 21 días. Las infecciones no manifiestas son frecuentes. Algunas personas infectadas presentan una enfermedad seudogripal leve, en tanto que otras manifiestan encefalitis. Hay una instauración súbita con cefalea intensa, escalofríos y fiebre, náusea y vómito, dolores generalizados y ataque al estado general. En las primeras 24 a 48 h, sobreviene una somnolencia intensa y el paciente puede presentar estupor. En los casos graves se presenta confusión mental, temblores, convulsiones y coma. La fiebre persiste por cuatro a 10 días. La tasa de mortalidad en la encefalitis varía (cuadro 38-2). En la encefalitis B japonesa, la tasa de mortalidad en los grupos de edad más avanzada puede alcanzar 80%. Las secuelas pueden ser leves a graves y comprenden deterioro mental, cambios de la personalidad, parálisis, afasia y signos cerebelosos.

Diagnóstico de laboratorio

A. Aislamiento del virus y detección directa

Los intentos de aislamiento del virus exigen precauciones de bioseguridad apropiadas para evitar las infecciones en el laboratorio. El virus se encuentra en la sangre sólo en las primeras fases de la infección, por lo general antes que comiencen los síntomas. También se pueden encontrar virus en el LCR o en muestras de tejido, lo que depende del microorganismo. Los alfavirus y los flavivirus por lo general pueden desarrollarse en linajes celulares comunes como Vero, BHK, HeLa y MRC-5. Los linajes de células de mosquito son útiles. La inoculación intracerebral de los ratones recién nacidos o cobayos también se utiliza para el aislamiento del virus.

Se dispone de análisis de detección de antígeno y reacción en cadena de la polimerasa para la detección directa de RNA o proteínas virales en especímenes clínicos para algunos arbovirus. El empleo de anticuerpos monoclonales específicos de virus en análisis inmunofluorescentes ha facilitado la identificación rápida del virus en muestras clínicas.

B. Serología

Los anticuerpos neutralizantes e inhibidores de la hemaglutinación son detectables pocos días después del inicio de la enfermedad. Los anticuerpos neutralizantes e inhibidores de la hemaglutinación perduran por años. La prueba HI es la prueba diagnóstica más sencilla, pero identifica el grupo más que el virus causante específico. Los análisis serológicos más sensibles detectan IgG específicos del virus en suero o en el líquido cefalorraquídeo con enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA).

Es necesario establecer un incremento de cuatro tantos o más de los anticuerpos específicos durante la infección para confirmar un diagnóstico. La primera muestra de suero debe obtenerse lo más pronto posible después del inicio y la segunda dos a tres semanas más tarde. Al establecer el diagnóstico se debe tomar en cuenta la reactividad cruzada dentro del grupo de alfavirus o flavivirus. Después de una sola infección por un miembro del grupo, también pueden aparecer anticuerpos a otros miembros. El diagnóstico serológico se vuelve difícil cuando ocurre una epidemia causada por un miembro del grupo serológico en una zona donde otro miembro del grupo es endémico.

Inmunidad

Se piensa que la inmunidad es permanente después de una infección simple. Se considera que las respuestas de anticuerpo humoral lo mismo que las inmunitarias celulares son importantes en la protección y el restablecimiento tras la infección. En zonas endémicas, la población puede adquirir inmunidad como resultado de infecciones asintomáticas; la proporción de personas con anticuerpos contra el virus transmitido por el artrópodo local se incrementa con la edad.

Debido a los antígenos comunes, la respuesta a la inmunización o a la infección con uno de los virus de un grupo puede modificarse por la exposición previa a otro miembro del mismo grupo. Este mecanismo es importante para conferir protección en una población contra una epidemia de un microorganismo relacionado (p. ej., no encefalitis japonesa B en zonas endémicas para la fiebre del Nilo Occidental).

Epidemiología

En zonas muy endémicas, casi toda la población humana puede infectarse con un arbovirus y la mayor parte de las infecciones son asintomáticas. Existen cocientes de infección a casos elevados en grupos de edad específica y para muchas infecciones por arbovirus (cuadro 38-2). Casi todos los casos ocurren en los meses de verano en el hemisferio norte cuando los artrópodos son más activos.

A. Encefalitis equina oriental y occidental

La encefalitis equina oriental es la más grave de las encefalitis por arbovirus y es la que tiene una tasa de mortalidad de casos más alta. Las infecciones son infrecuentes y esporádicas en Estados Unidos, promediando cinco casos confirmados por año. Las infecciones asintomáticas son infrecuentes. En el caso de la encefalitis equina occidental, la transmisión ocurre a un bajo nivel en el occidente rural, donde las aves y los mosquitos *Culex tarsalis* participan en el ciclo de mantenimiento del virus.

Las infecciones de seres humanos promedian 15 casos confirmados por año. Sin embargo, ha habido casos previos (los más recientes en 1987) en que los seres humanos y los equinos se infectaban a niveles epidémicos y epizoóticos. Los brotes epidémicos han afectado a amplias zonas del occidente de Estados Unidos y Canadá.

B. Encefalitis de St. Louis

El virus de la encefalitis de St. Louis es la causa más importante de encefalitis epidémica del ser humano en Norteamérica (fig. 38-2) y ha causado casi 10 000 casos y 1 000 muertes desde que fue reconocido inicialmente en 1933. Las tasas de seroprevalencia en general son bajas y la incidencia de encefalitis de St. Louis varía cada año en Estados Unidos. En la actualidad hay un promedio de 130 casos confirmados cada año. Menos de 1% de las infecciones virales produce manifestaciones clínicas. Es necesaria la presencia de mosquitos infectados para que puedan presentarse las infecciones humanas, aunque los factores socioeconómicos y culturales (aire acondicionado, mallas, control de los mosquitos) modifican el grado de exposición de la población a estos vectores portadores de virus.

C. Fiebre del Nilo Occidental

La fiebre del Nilo Occidental es causada por un miembro del complejo antigénico de flavivirus de la encefalitis japonesa B. Se presenta en Europa, Medio Oriente, África, la ex Unión Soviética, el suroeste de Asia y, en tiempos más recientes, Estados Unidos. Apareció inesperadamente en la zona de la ciudad de Nueva York en 1999 y produjo siete decesos y una gran mortalidad en una serie de aves domésticas y exóticas. El análisis secuencial de las cepas de virus demostró que se originaba en el Medio Oriente; probablemente cruzó el Atlántico en un ave, mosquito o viajero humano infectados.

Al cabo de tres años el virus del Nilo Occidental ha consumado su desplazamiento transcontinental a través de Estados Unidos y se estableció en una presencia permanente en los climas templados de Norteamérica. En la actualidad es la principal causa de encefalitis por arbovirus en Estados Unidos. Se estima que casi 80% de las infecciones del Nilo Occidental son asintomáticas y cerca de 20% producen la fiebre del Nilo Occidental y menos de 1% es causa de enfermedad neuroinvasiva (meningitis, encefalitis o parálisis flácida aguda). La encefalitis mortal es más frecuente en personas de edad avanzada. Se ha identificado como un factor de riesgo para las infecciones del Nilo Occidental sintomáticas una deficiencia genética que produce una variante no funcional del receptor de quimiocina CCR5.

En 2002 una epidemia en Estados Unidos fue la de meningoencefalitis por arbovirus más amplia documentada en el hemisferio occidental. Se comunicaron 3 389 casos de infección por el virus del Nilo Occidental en humanos, 69% con meningoencefalitis y 21% con fiebre del Nilo Occidental. Más de 9 000 casos ocurrieron en caballos. En 2006, se notificó un total de 1 491 casos de infección neuroinvasiva por el virus del Nilo Occidental en estadounidenses. Se estimó que habrían ocurrido 41 750 casos de fiebre del Nilo Occidental y un total de más de 208 000 infecciones humanas en 2006. Se detectó el virus del Nilo Occidental en los 48 estados contiguos.

La epidemia del virus del Nilo Occidental de 2002 comprendió los primeros casos documentados de transmisión interpersonal a través del trasplante de órganos, transfusiones sanguíneas, *in utero* y tal vez lactancia natural. En Estados Unidos en 2003 se implantó la detección sistemática del virus del Nilo Occidental en donaciones de sangre.

El virus del Nilo Occidental produce viremia y una enfermedad febril leve y aguda con linfadenopatía y exantema. La afectación meníngea transitoria puede presentarse durante la etapa aguda. Sólo existe un tipo antigénico de virus y se supone que la inmunidad es permanente.

En 2003 se comenzó a contar con una vacuna del Nilo Occidental. No existe vacuna para el ser humano. La prevención de la enfermedad por el virus del Nilo Occidental depende del control de los mosquitos y de la protección contra sus picaduras.

D. Encefalitis japonesa B

La encefalitis japonesa B es la principal causa de encefalitis viral en Asia (fig. 38-2). Cada año se presentan alrededor de 50 000 casos en China, Japón, Corea y el subcontinente conformado por India, con 10 000 decesos, principalmente niños y ancianos. La mortalidad puede superar 30%. Un elevado porcentaje de sobrevivientes (hasta 30%) quedan con secuelas neurológicas y psiquiátricas. Se ha comunicado que las infecciones durante el primero y el segundo trimestres del embarazo desencadenaron muerte fetal.

Los estudios de seroprevalencia señalan la exposición casi general al virus de la encefalitis japonesa B hacia la edad adulta. El cociente estimado entre infecciones asintomáticas y sintomáticas es de 300:1.

Ciclos de transmisión en hospedador-vector del arbovirus

Las infecciones de seres humanos por los virus de la encefalitis transmitida por mosquitos se presentan cuando un mosquito u otro artrópodo pica inicialmente a un animal infectado y después a un ser humano.

Las encefalitis equinas —oriental, occidental y venezolana— son transmitidas por mosquitos culícidos a caballos o seres humanos desde un ciclo de mosquito-ave-mosquito (fig. 38-5). Los equinos, al igual que los seres humanos, son hospedadores no esenciales para el mantenimiento del virus. Tanto la encefalitis equina oriental como la venezolana en los caballos son graves y hasta 90% de los animales afectados mueren. La encefalitis equina occidental epizoótica a menudo es menos mortal para los caballos. Además, la encefalitis equina oriental produce epizootias graves en determinadas aves de juego domésticas. También ocurre un ciclo de mosquito-ave-mosquito en la encefalitis de St. Louis, la fiebre por el virus del Nilo Occidental y la encefalitis japonesa B. Los cerdos son hospedadores importantes de la encefalitis japonesa B. Los mosquitos se mantienen infectados de por vida (varias semanas a meses). Sólo la hembra se alimenta de sangre y puede alimentar y transmitir el virus más de una vez. Las células del intestino medio del mosquito son el principal lugar para la multiplicación del virus. Esto se acompaña de una viremia y de la invasión de órganos —principalmente glándulas salivales y tejido nervioso, donde ocurre la multiplicación viral secundaria. El artrópodo se mantiene sano.

La infección de murciélagos insectívoros por arbovirus produce una viremia que dura seis a 12 días sin ninguna enfermedad o cambios patológicos en el murciélago. Si bien la concentración viral es alta, el murciélago infectado puede infectar a los mosqui-

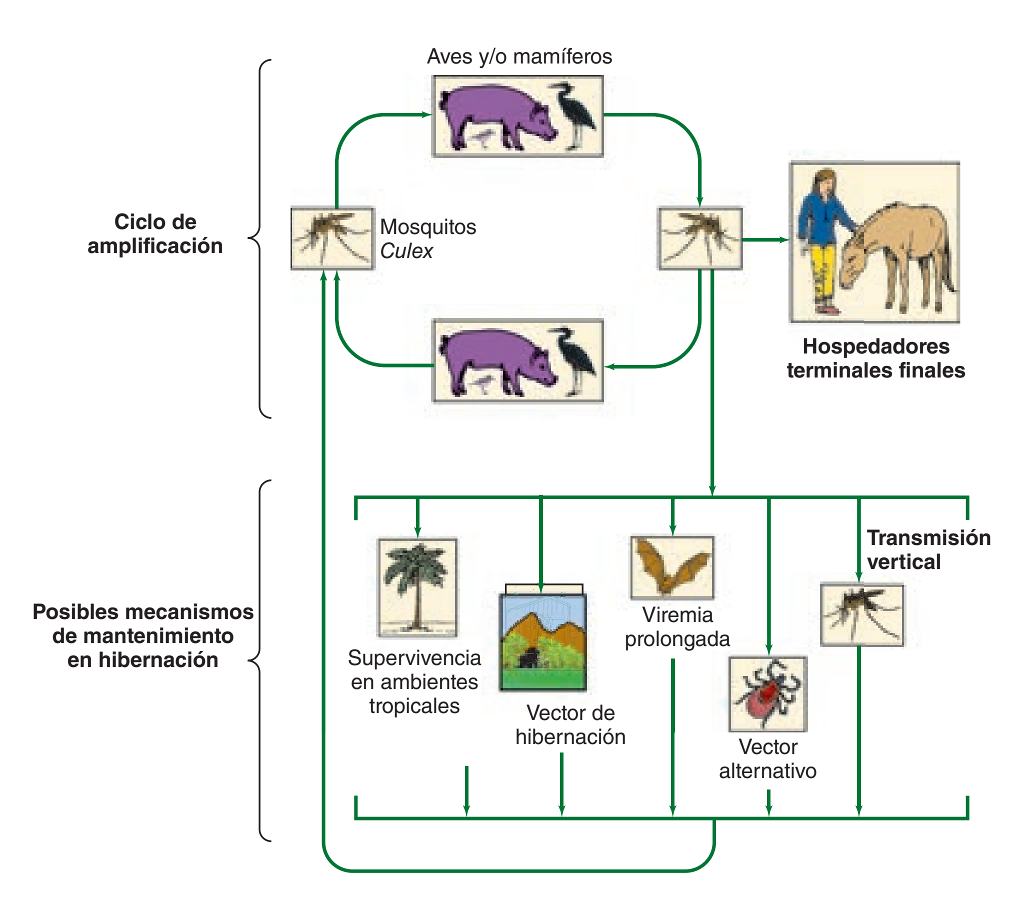


FIGURA 38-5 Ciclo de transmisión generalizada de los flavivirus transmitidos por el mosquito que producen encefalitis. Se muestra la amplificación en el tiempo de verano y los posibles mecanismos de hibernación. Los seres humanos son hospedadores terminales muertos y no contribuyen a la perpetuación de la transmisión del virus. Las aves silvestres son los hospedadores virémicos más frecuentes, pero los cerdos tienen una participación importante en el caso del virus de la encefalitis japonesa. La pauta mostrada se aplica a muchos flavivirus (pero no a todos). (Adaptada con autorización de Monath TP, Heinz FX. Flaviviruses. En*: Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

tos que luego pueden transmitir la infección a aves silvestres y a aves de corral, así como a otros murciélagos.

También hay encefalitis por flavivirus transmitidas por las garrapatas, como la encefalitis de la primavera y el verano de Rusia. Esta enfermedad ocurre principalmente en los primeros días del verano, sobre todo en personas expuestas a garrapatas *Ixodes persulcatus* e *Ixodes ricinus* en zonas boscosas no despejadas. Las garrapatas pueden infectarse en cualquier etapa de su metamorfosis y el virus se puede transmitir a través de los ovarios (fig. 38-6). El virus es secretado en la leche de cabras infectadas por periodos prolongados y la infección puede transmitirse a quienes beben leche no pasteurizada. El virus de la encefalitis de Powassan fue el primer miembro del complejo ruso de la primavera y el verano que se aisló en Norteamérica. El caso mortal original se comunicó en Canadá en 1959. La infección humana es infrecuente.

Hibernación de los arbovirus

Las características epidemiológicas de las encefalitis transmitidas por artrópodos deben tomar en cuenta el mantenimiento y la diseminación de los virus en la naturaleza en la ausencia de seres humanos. Se han aislado virus de mosquitos y garrapatas, los cuales sirven de reservorios de la infección. En las garrapatas, los virus pueden pasar de una generación a otra por vía transovárica y en tales casos la garrapata funciona como un verdadero portador del virus y también de su vector (fig. 38-6). En los climas tropicales, donde se presentan poblaciones de mosquitos durante todo el año, el ciclo de los arbovirus es continuo entre mosquito y reservorios animales.

En climas templados, el virus puede reintroducirse cada año desde el exterior (p. ej., por aves que migran desde zonas tropicales) o pueden sobrevivir el invierno en la zona local. Los posibles pero no demostrados mecanismos de hibernación son los siguientes (figs. 38-5 y 38-6): 1) los mosquitos en hibernación en el momento de su emergencia pueden reinfectar aves; 2) el virus puede mantenerse latente en el invierno en las aves, los mamíferos o los artrópodos, y 3) los vertebrados de sangre fría (serpientes, tortugas, cocodrilos, lagartos, sapos) pueden hacer las veces de reservorios en invierno. Los mosquitos pueden infectarse al alimentarse de culebras que emergen y luego transmiten el virus. Se ha detectado el virus en la sangre de serpientes silvestres.

Los mosquitos están íntimamente asociados a murciélagos, tanto en el verano como durante el invierno (en lugares de hibernación). El ciclo de mosquito-murciélago-mosquito puede ser un mecanismo de hibernación posible para algunos arbovirus.

Tratamiento y control

No hay ningún tratamiento específico. El control biológico del vertebrado hospedador natural por lo general no es práctico, so-

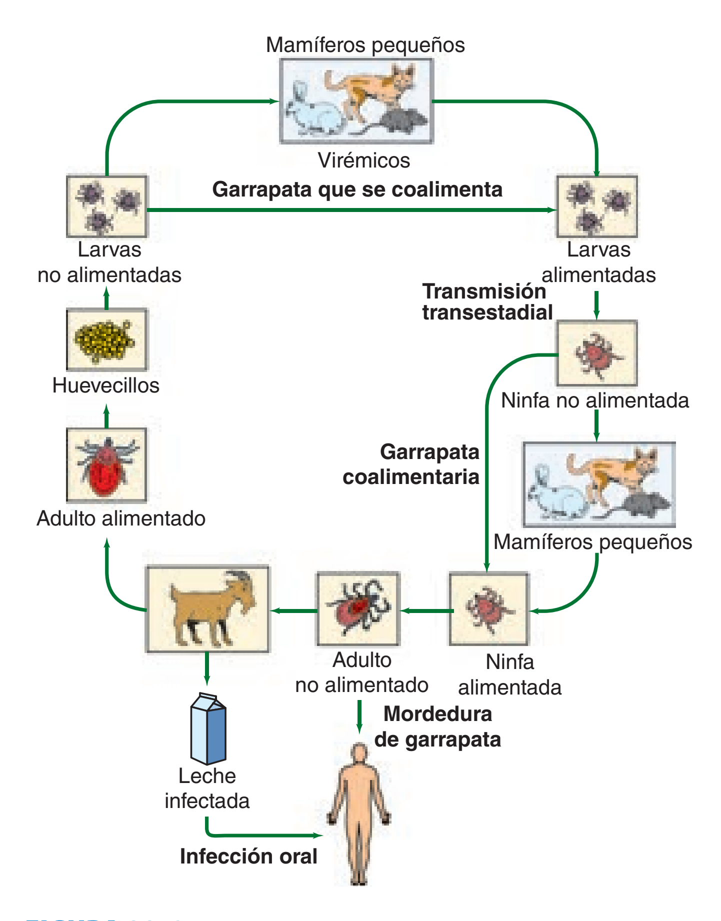


FIGURA 38-6 Ciclo de transmisión generalizada de los flavivirus transmitidos por la garrapata, que muestran los hospedadores para las garrapatas en las etapas de larva, ninfa y adulto. El virus es transmitido a etapas sucesivas de la garrapata durante la transmisión de un estadio a otro, así como por vía transovárica a la progenie de las garrapatas adultas. Tanto las garrapatas hembras como machos intervienen en la transmisión. El virus de la encefalitis transmitida por la garrapata puede transmitirse a las garrapatas no infectadas que se alimentan simultáneamente de un hospedador vertebrado sin necesidad de una infección virémica activa del hospedador. (Adaptada con autorización de Monath TP, Heinz FX: Flaviviruses. En: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

bre todo cuando los hospedadores son aves silvestres. El método más eficaz es el control de artrópodos, de manera que la atomización de insecticidas destruirá mosquitos. Las medidas personales comprenden evitar los mosquitos mediante repelentes y con uso de prendas protectoras. Las casas deben tener mallas de ventanas adecuadas.

Se han desarrollado vacunas eficaces de virus muertos para proteger a los caballos contra las encefalitis equinas oriental, occidental y venezolana. Se dispone de una vacuna de virus vivos atenuados para la encefalitis equina venezolana que permite reducir las epidemias en los caballos. Estas vacunas no son para uso humano. Se cuenta con vacunas humanas de microorganismos inactivados experimentales contra los virus de las encefalitis orientales, occidental y venezolana equinas en fase de investigación para proteger a los técnicos de laboratorio. Las vacunas en la encefalitis japonesa B de virus muertos y de virus vivos atenuados están disponibles para uso humano en varios países asiáticos. La vacuna está disponible en Estados Unidos para personas que viajan a países endémicos.

FIEBRE AMARILLA

El virus de la fiebre amarilla es el prototipo de la familia Flaviviridae. Produce fiebre amarilla, una enfermedad aguda, febril, transmitida por los mosquitos en regiones tropicales y subtropicales de África y Sudamérica (fig. 38-2). Los casos graves se caracterizan por disfunción hepática y renal y hemorragia, con una elevada mortalidad.

Basándose en el análisis secuencial, se han identificado por lo menos siete genotipos de virus de la fiebre amarilla, cinco en África y dos en Sudamérica. Hay un solo serotipo.

El virus de la fiebre amarilla se multiplica en animales de muy diferentes tipos y en los mosquitos y se cultiva en huevos embrionados, cultivos de células de embrión de pollo y linajes celulares, incluidos los de origen de simio, humano, cobayo y mosquito.

Patogenia y anatomía patológica

El virus es introducido por un mosquito a través de la piel donde se multiplica. Se disemina a ganglios linfáticos locales, hígado, bazo, riñón, médula ósea y miocardio, donde puede persistir por días. Está presente en la sangre en las primeras etapas de la infección.

Las lesiones de la fiebre amarilla se deben a la ubicación y la propagación del virus en un órgano específico. Las infecciones pueden producir lesiones necróticas en el hígado y el riñón. También se presentan cambios degenerativos en bazo, ganglios linfáticos y corazón. La infección grave se caracteriza por hemorragia y choque. La lesión miocárdica por el virus puede contribuir al choque.

Manifestaciones clínicas

El periodo de incubación es de tres a seis días. En el inicio brusco, el paciente tiene fiebre, escalofríos, cefalea, mareos, mialgias y dorsalgia (seguidos de náusea, vómito y bradicardia). Durante este periodo inicial, que dura varios días, el paciente se encuentra virémico y constituye una fuente de infección para los mosquitos. La mayor parte de los pacientes se recuperan en esta etapa, pero en casi 15% de los casos la enfermedad evoluciona a una forma más grave caracterizada por fiebre, ictericia, insuficiencia renal y manifestaciones hemorrágicas. El vómito puede ser negro con sangre alterada. Cuando la enfermedad evoluciona a la etapa grave (insuficiencia hepatorrenal), la tasa de mortalidad es elevada (20% o más), sobre todo en los pequeños y en los ancianos. Ocurre el deceso en el día siete a 10 de la enfermedad. La encefalitis es infrecuente.

Por otra parte, la infección puede ser tan leve que pasa inadvertida. Sea cual sea la gravedad, no hay secuelas; los pacientes mueren o se restablecen del todo.

Diagnóstico de laboratorio

A. Detección o aislamiento del virus

Se puede identificar el antígeno o el ácido nucleico del virus en especímenes de tejido utilizando inmunohistoquímica, la captación del antígeno mediante ELISA o la prueba de reacción en cadena de la polimerasa. El virus puede aislarse de la sangre los

primeros cuatro días después del inicio o de tejido en el estudio forense mediante la inoculación intracerebral de ratones o con el empleo de linajes de células.

B. Serología

Los anticuerpos IgM aparecen durante la primera semana de la enfermedad. La detección de anticuerpo IgM mediante la captura de ELISA en una sola muestra proporciona un diagnóstico presuntivo y se confirma por un incremento del cuádruplo o más en los títulos de anticuerpo neutralizante entre muestras de suero obtenidos en la fase aguda y la fase de convalecencia. Los métodos serológicos más antiguos, como HI, en gran parte se han remplazado con enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA). Los anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación específicos aparecen primero, seguidos rápidamente de anticuerpos contra otros flavivirus.

Inmunidad

Los anticuerpos neutralizantes aparecen alrededor de una semana de avanzada la enfermedad y son causa de la eliminación del virus. Los anticuerpos neutralizantes persisten de por vida y proporcionan una protección completa contra la enfermedad. La demostración de anticuerpos neutralizantes es la única prueba útil de la inmunidad contra la fiebre amarilla.

Epidemiología

Se reconocen dos ciclos epidemiológicos importantes de transmisión de la fiebre amarilla; a saber: 1) fiebre amarilla urbana y 2) fiebre amarilla de la selva (fig. 38-7). La fiebre amarilla urbana conlleva la transmisión interpersonal por mosquitos *Aedes* domésticos. En el hemisferio occidental y en África Occidental, esta especie es principalmente *Aedes aegypti*, que se reproduce en las acumulaciones de agua que acompañan a los asentamientos humanos. En zonas donde se ha eliminado o abolido *A. aegypti*, ha desaparecido la fiebre amarilla urbana.

La fiebre amarilla de la selva es principalmente una enfermedad de los simios. En Sudamérica y África, es transmitida de simios a simios por mosquitos arbóreos (es decir, *Haemagogus, Aedes*) que habitan el bosque húmedo. La infección en los animales puede ser grave o no manifiesta. El virus se multiplica en mosquitos, los cuales permanecen infecciosos de por vida. Las personas que realizan actividades de tala de árboles de la selva entran en contacto con estos mosquitos y se infectan.

La fiebre amarilla no ha invadido Asia, aun cuando el vector *A. aegypti* tiene una amplia distribución ahí.

La fiebre amarilla sigue infectando y destruyendo a millares de personas en todo el mundo en vista de que no han logrado inmunizarse. Se estima que cada año la fiebre amarilla afecta a 200 000 personas, de las cuales fallecen unas 30 000. La mayor parte de los brotes epidémicos (aproximadamente 90%) ocurren en

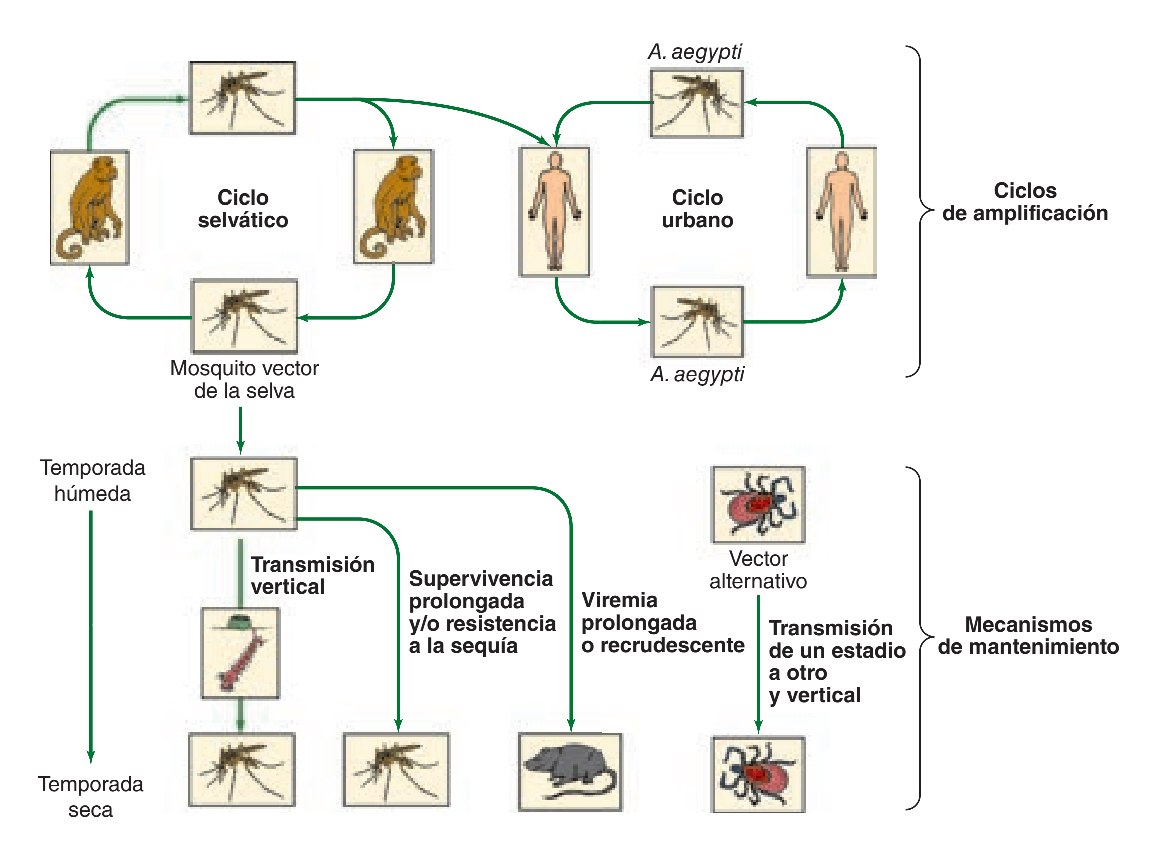


FIGURA 38-7 Ciclos de transmisión de los virus de la fiebre amarilla y del dengue. Estos virus tienen ciclos de mantenimiento enzoóticos en los que intervienen vectores *Aedes* y primates no humanos. Los virus del dengue son transmitidos principalmente entre seres humanos y *Aedes aegypti* que se reproducen en recipientes de agua doméstica. En el caso de la fiebre amarilla, la transmisión selvática se dispersa por toda la distribución geográfica del virus. En los países tropicales de América, los casos de fiebre amarilla en seres humanos se derivan del contacto con los vectores mosquitos de la selva y no se han observado casos de fiebre amarilla urbana (transmitidos por *Aedes aegypti*) durante más de 50 años. En África, los vectores selváticos intervienen en la transmisión del virus entre monos y entre seres humanos, y hay una participación frecuente de *Aedes aegypti* en las regiones urbanas y en las regiones secas de la sabana. (Adaptada con autorización de Monath TP, Heinz FX: Flaviviruses. En: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

África. Las epidemias suelen presentarse en una zona de emergencia típica para la fiebre amarilla: sabanas húmedas y semihúmedas adjuntas a la selva lluviosa donde se mantiene el ciclo selvático en una población de simios extensa. Durante las epidemias en África, el cociente de infección:casos fluctúa de 20:1 a 2:1. Todos los grupos de edad son susceptibles.

La fiebre amarilla en los países americanos presenta características epidemiológicas que son características de su ciclo selvático. Casi todos los casos ocurren en varones de 15 a 45 años de edad y que realizan actividades agrícolas o en los bosques.

Tratamiento, prevención y control

No se dispone de ninguna farmacoterapia antiviral.

Los programas enérgicos de abatimiento del mosquito prácticamente han eliminado la fiebre amarilla urbana en gran parte de Sudamérica; sin embargo, el control de vectores es impráctico en muchos lugares de África. El último brote de fiebre amarilla notificado en Estados Unidos tuvo lugar en 1905. No obstante, con la velocidad de los viajes aéreos modernos, existe la amenaza de un brote de fiebre amarilla siempre que está presente *A. aegypti.* Casi todos los países insisten en el control apropiado de los mosquitos en los aeroplanos así como en la vacunación de todas las personas por lo menos 10 días antes de la llegada a una zona endémica o de la salida de la misma.

La cepa 17D del virus de la fiebre amarilla es una vacuna excelente de virus vivos atenuados. Durante el paso serial de una cepa pantrópica del virus de la fiebre amarilla a través de cultivos de tejido, se aisló la cepa 17D relativamente avirulenta. Esta cepa perdió su capacidad para provocar enfermedad viscerotrópica o neurotrópica y se ha utilizado como una vacuna durante más de 70 años.

Se ha determinado la secuencia de la cepa Asibi virulenta del virus de la fiebre amarilla y se ha comparado con la de la cepa de la vacuna 17D, derivada de la misma. Estas dos cepas están separadas por más de 240 pases. Los dos genomas de RNA (10 862 nucleótidos de longitud) difieren en 68 posiciones de nucleótido, lo que da por resultado un total de diferencias de 32 aminoácidos.

La vacuna se prepara en huevos y se dispensa en un polvo desecado. Es un virus vivo y se debe mantener frío. Una sola dosis produce una buena respuesta de anticuerpo en más de 95% de las personas vacunadas que persiste por lo menos durante 30 años. Después de la vacunación, el virus se multiplica y puede aislarse de la sangre antes que aparezcan anticuerpos.

La vacunación está contraindicada en los lactantes menores de nueve meses de edad, durante el embarazo, y en personas con alergias al huevo o alteraciones de los sistemas inmunitarios (p. ej., infección por el virus de la inmunodeficiencia humana, cáncer, trasplante de órgano).

La vacuna 17D es tolerable. Se han administrado más de 400 millones de dosis de vacuna de la fiebre amarilla y las reacciones adversas graves son en extremo infrecuentes. Han ocurrido casi dos docenas de casos en todo el mundo de enfermedad neurotrópica relacionada con la vacuna (encefalitis posvacunal), la mayor parte de los cuales ocurrieron en lactantes. En el año 2000 se describió un síndrome grave denominado enfermedad viscerotrópica relacionada con la vacuna de la fiebre amarilla. En todo el mundo se han notificado menos de 20 casos de insuficiencia orgánica múltiple en receptores de la vacuna.

La vacunación es la medida preventiva más eficaz contra la fiebre amarilla, una infección potencialmente grave con una elevada tasa de mortalidad para la cual no se dispone de ningún tratamiento específico.

DENGUE

Se trata de una infección transmitida por mosquitos causada por un flavivirus que se caracteriza por fiebre, cefalea grave, mialgias y artralgias, náusea y vómito, dolor ocular y exantema. Una forma grave de la enfermedad, la fiebre por el dengue hemorrágico o el síndrome de choque por dengue, afecta principalmente a los niños. El dengue es endémico en más de 100 países.

Manifestaciones clínicas

La enfermedad clínica comienza cuatro a siete días (intervalo de tres a 14 días) después de una picadura de mosquito infeccioso. La instauración de la fiebre puede ser súbita o puede haber síntomas prodrómicos de malestar, escalofríos y cefalea. Los dolores aparecen pronto, sobre todo en la espalda, las articulaciones, los músculos y los globos oculares. La fiebre persiste durante dos a siete días, lo que corresponde a la máxima densidad viral. La temperatura puede ceder casi en el tercer día y aumentar de nuevo alrededor de los cinco a ocho días después del inicio (“ensillada”). Las mialgias y la artralgia profunda son características. Puede aparecer un exantema en el tercer o el cuarto día y persistir durante uno a cinco días. Los ganglios linfáticos a menudo están aumentados de tamaño. La fiebre por el dengue característica es una enfermedad que cede espontáneamente. La convalecencia puede tardar semanas, aunque las complicaciones y el deceso son infrecuentes. Sobre todo en los niños pequeños, el dengue puede ser una enfermedad febril leve que persista por un leve periodo.

Puede presentarse un síndrome grave (**fiebre hemorrágica por dengue** y **síndrome de choque por dengue**) en personas (por lo general niños) con anticuerpo adquirido pasivamente (como anticuerpo materno) o anticuerpo de dengue heterólogo no neutralizante preexistente debido a la infección previa por un serotipo diferente de virus. Aunque los síntomas iniciales se parecen al dengue normal, se agrava el estado del paciente. La característica anatomopatológica clave de la fiebre hemorrágica por el dengue es un aumento de la permeabilidad vascular con filtración de plasma hacia los espacios intersticiales asociada a un incremento de las concentraciones de citocina vasoactivas. Esto puede desencadenar choque letal en algunos pacientes. Pruebas circunstanciales señalan que la infección secundaria por el virus del dengue de tipo 2 después de una infección por el virus de tipo 1 constituye un factor de riesgo específico para la enfermedad grave.

La patogenia del síndrome grave implica un anticuerpo preexistente contra el dengue. Se postula que se forman complejos de virus de un anticuerpo en los primeros días de la segunda infección por dengue y que los anticuerpos intensificadores no neutralizantes favorecen la infección de una mayor cantidad de células mononucleares, seguida de la liberación de citocinas, mediadores vasoactivos y procoagulantes, lo que lleva a la coagulación intravascular diseminada que se observa en el síndrome de fiebre hemorrágica. También puede haber de por medio respuestas inmunitarias celulares de reacción cruzada al virus del dengue.

Diagnóstico de laboratorio

Se dispone de métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con transcriptasa inversa para la identificación rápida y la serotipificación del virus del dengue en suero de fase aguda, aproximadamente durante el periodo de fiebre. Es difícil aislar el virus. El método favorecido en la actualidad es una inoculación de un linaje celular de mosquito con suero del paciente, aunado a análisis de ácido nucleico para identificar un virus aislado.

El diagnóstico serológico es complicado por la reactividad cruzada de anticuerpos IgG a antígenos de flavivirus heterólogos. Se dispone de diversos métodos; los utilizados con más frecuencia son ELISA de IgM o IgG para la captura específica de proteína viral E/M y la prueba de inhibición de la hemaglutinación. Se presentan anticuerpos IgM a pocos días de la enfermedad. Los anticuerpos neutralizantes e inhibidores de la hemaglutinación aparecen en el lapso de una semana después que comienza la fiebre por el dengue. El análisis de sueros de fase aguda y convaleciente pareados para demostrar un incremento notable del valor cuantitativo de anticuerpo es la prueba más fiable de una infección por el dengue activa.

Inmunidad

Existen cuatro serotipos del virus que pueden distinguirse mediante los análisis moleculares y las pruebas de Nt. La infección confiere protección de por vida contra ese serotipo, pero la protección cruzada entre los serotipos tiene una breve duración. La reinfección con un virus de un serotipo diferente después del ataque primario tiene más posibilidades de producir enfermedad grave (fiebre hemorrágica del dengue).

Epidemiología

Los virus del dengue tienen una distribución mundial en las regiones tropicales (fig. 38-2). Casi todas las regiones subtropicales y tropicales en todo el mundo donde existen los vectores *Aedes* son zonas endémicas. En los últimos 20 años, el dengue epidémico ha surgido como un problema en los países de América. En 1995, en Centroamérica y Sudamérica ocurrieron más de 200 000 casos de dengue y más de 5 500 casos de fiebre hemorrágica del dengue. Las pautas cambiantes de la enfermedad probablemente tienen relación con el crecimiento rápido de la población urbana, el hacinamiento y las medidas relajadas para controlar el mosquito.

El dengue en 2008 fue la enfermedad viral transmitida por el mosquito que afecta al ser humano de mayor importancia. Se estima que en todo el mundo cada año se presentan unos 50 millones o más de casos de dengue y 400 000 casos de fiebre hemorrágica por el dengue. Esta última es la causa principal de muerte infantil en varios países asiáticos.

El riesgo del síndrome de fiebre hemorrágica es de casi 0.2% durante la primera infección por el dengue pero de por lo menos 10 tantos más elevada durante la infección con un segundo serotipo del virus del dengue. La tasa de mortalidad por la fiebre hemorrágica del dengue puede alcanzar 15% pero se puede reducir a menos de 1% con el tratamiento apropiado.

El cociente de infecciones asintomáticas a manifiestas es variable pero puede ser de 15:1 para las infecciones primarias; es más bajo en las infecciones secundarias.

En las poblaciones urbanas, las epidemias del dengue son explosivas y afectan a porciones considerables de la población. A menudo comienzan durante las estaciones lluviosas cuando abunda el mosquito vector *A. aegypti* (fig. 38-7). El mosquito se reproduce en climas tropicales o semitropicales en receptáculos de agua estancada o en plantas cercanas a los hábitat humanos.

A. aegypti es el principal mosquito vector del dengue en el hemisferio occidental. La hembra adquiere el virus al alimentarse de un humano virémico. Tras un periodo de ocho a 14 días, los mosquitos son infecciosos y probablemente se mantienen así de por vida (uno a tres meses). En el trópico, la reproducción del mosquito durante todo el año mantiene la enfermedad.

La Segunda Guerra Mundial fue la causa de la diseminación del dengue desde el sureste de Asia por toda la región del Pacífico. En América por muchos años sólo existió el dengue de tipo 2. Luego, en 1977 se detectó un virus del dengue de tipo 1. Esta fue la primera vez que se había aislado el virus de tipo 1 en el hemisferio occidental. En 1981, el dengue de tipo 4 se reconoció inicialmente en el hemisferio occidental y después en 1994 el dengue de tipo 3. Los virus en la actualidad se propagan por toda Centroamérica y Sudamérica y la fiebre hemorrágica del dengue es endémica en muchos países.

El dengue endémico en el Caribe y en México es una amenaza constante en Estados Unidos, donde prevalecen los mosquitos *A. aegypti* en los meses de verano. Junto con el aumento de la actividad epidémica del dengue en los trópicos, ha habido un incremento en el número de casos importados hacia Estados Unidos. El primer caso de fiebre hemorrágica por el dengue adquirido localmente en Estados Unidos se presentó en el sur de Texas en el año 2005.

En 1985 se descubrió en Texas *A. albopictus,* un mosquito de origen asiático; hacia 1989 se había difundido por todo el sureste de Estados Unidos, donde prevalece *A. aegypti,* el principal vector del virus del dengue. En contraste con *A. aegypti,* que no puede hibernar en los estados del norte, *A. albopictus* puede emigrar más hacia el norte durante el invierno, lo que aumenta el riesgo del dengue epidémico en Estados Unidos.

Tratamiento y control

No se dispone de ninguna farmacoterapia antiviral. La fiebre hemorrágica del dengue se trata mediante la reposición de líquidos. No existe ninguna vacuna, pero está en desarrollo su posibilidad, con la gran dificultad de desarrollar una que confiera protección contra los cuatro serotipos del virus.

El control depende de las medidas contra el mosquito, por ejemplo, eliminación de los lugares de reproducción y el empleo de insecticidas. Las ventanas y las puertas con mallas pueden reducir la exposición a los vectores.

ENCEFALITIS POR BUNYAVIRUS

La familia Bunyaviridae contiene más de 300 virus, la mayor parte transmitidos por artrópodos. Las partículas esféricas que miden 80 a 120 nm contienen genoma monocatenario, de polaridad negativa o bipolar, de RNA segmentado triple de un tamaño total de 11 a 19 kilobases. La envoltura tiene dos glucoproteínas. Varios virus producen encefalitis admitidas por el mosquito en seres humanos y en animales; otros causan fiebres hemorrágicas.

La transmisión viral ocurre en algunos mosquitos. Algunos son transmitidos por las moscas de la arena. El síndrome pulmonar por hantavirus es causado por un virus transmitido por roedores. Los bunyavirus son sensibles a la inactivación por calor, detergentes, formaldehído y un pH bajo; algunos producen hemaglutinación (fig. 38-1).

El complejo del virus de la encefalitis de California comprende 14 virus antigénicamente relacionados del género *Orthobunyavirus* de la familia. Esto incluye el virus de La Crosse, un microorganismo patógeno importante para el ser humano en Estados Unidos (cuadro 38-2). El virus de La Crosse es una causa importante de encefalitis y meningitis aséptica en los niños, sobre todo en la parte norte del medio oeste. Casi todos los casos se presentan entre julio y septiembre en los niños menores de 16 años de edad. Hay casi 70 casos de encefalitis de La Crosse comunicados por año.

Los virus son transmitidos por diversos mosquitos de bosques, principalmente *Aedes triseriatus.* Los principales hospedadores vertebrados son pequeños mamíferos como ardillas arborícolas, ardillas terrestres y conejos. La infección humana es tangencial. La hibernación puede ocurrir en los huevecillos del mosquito vector. El virus es transmitido por vía transovárica y los mosquitos adultos que se desarrollen a partir de los huevos infectados pueden transmitir el virus por la picadura.

El inicio de la infección por el virus de encefalitis de California es brusco, por lo general con cefalea intensa, fiebre y en algunos casos vómito y convulsiones. Casi la mitad de los pacientes presentan convulsiones y la tasa de mortalidad de casos es de casi 1%. Con menos frecuencia sólo hay meningitis aséptica. La enfermedad persiste por 10 a 14 días aunque la convalecencia puede ser prolongada. Las secuelas neurológicas son infrecuentes. Hay muchas infecciones por cada caso de encefalitis. La confirmación serológica mediante pruebas HI, ELISA o Nt se realiza en especímenes de sueros de etapa aguda y convaleciente.

FIEBRE POR LA MOSCA DE LA ARENA

La fiebre por la mosca de la arena es una enfermedad leve transmitida por insectos que suele presentarse en países limítrofes con el mar Mediterráneo así como en Rusia, Irán, Pakistán, India, Panamá, Brasil y Trinidad. La fiebre por la mosca de la arena (también llamada fiebre por *Phlebotomus)* es causada por un bunyavirus del género *Phlebovirus* (cuadro 38-1).

La enfermedad es transmitida por la mosca de la arena hembra, *Phlebotomus papatasii,* un mosquito de sólo unos cuantos milímetros de tamaño. En los trópicos, la mosca de la arena prevalece todo el año; y en climas más fríos, sólo durante las estaciones de verano. Ocurre la transmisión transovárica.

En zonas endémicas, la infección es frecuente en la infancia. Cuando llegan los adultos no inmunes (p. ej., las tropas), pueden ocurrir grandes brotes epidémicos entre los nuevos inmigrantes y que a veces se confunden con paludismo.

En el ser humano, la picadura de la mosca de la arena produce pápulas pruriginosas pequeñas de la piel y persisten hasta por cinco días. La enfermedad comienza bruscamente después de un periodo de incubación de tres a seis días. El virus se detecta en la sangre muy poco antes del inicio de los síntomas. Las manifestaciones clínicas consisten en cefalea, ataque al estado general, náusea, fiebre, fotofobia, rigidez del cuello y la espalda, dolor abdominal y leucopenia. Todos los pacientes se restablecen. No se dispone de ningún tratamiento específico.

Las moscas de la arena son más frecuentes inmediatamente arriba del suelo. Debido a su tamaño pequeño pueden pasar a través de mallas y redes de mosquitos ordinarias. El insecto se alimenta principalmente por la noche. La prevención de la enfermedad en zonas endémicas se basa en el empleo de repelentes de insectos durante la noche y de insecticidas residuales y en los alojamientos de vivienda.

FIEBRE DEL VALLE DE RIFT

El microorganismo que produce esta enfermedad, un bunyavirus del género *Phlebovirus,* es un virus zoonótico transmitido por el mosquito que es principalmente patógeno en el ganado doméstico. Los seres humanos se infectan en forma secundaria durante el curso de epizootias en animales domesticados. Es frecuente la infección en técnicos de laboratorio.

Las epizootias se presentan periódicamente después de lluvias intensas que permiten explosiones del vector primario y el portador (mosquitos de la especie *Aedes*). La viremia en los animales desencadena infección de otros vectores con transmisión colateral al ser humano. La transmisión a las personas es principalmente por el contacto con sangre y líquidos corporales de animales infectados y picaduras de mosquitos.

La enfermedad en el ser humano suele ser una enfermedad febril leve de duración breve y el establecimiento casi siempre es completo. Las complicaciones comprenden retinitis, encefalitis y fiebre hemorrágica. Puede ocurrir una ceguera permanente (1 a 10% de los casos con retinitis). Alrededor de 1% de los pacientes infectados mueren.

La fiebre del Valle de Rift existe casi en todos los países subsaharianos. Se propagó en 1977 a Egipto, donde produjo enormes pérdidas de corderos y ganado vacuno y millares de casos humanos, con 600 fallecimientos. En 1987 ocurrió un brote epidémico considerable en África Occidental y en 1997 en África Oriental. La primera propagación documentada del virus de la fiebre del Valle de Rift fuera de África ocurrió en el año 2000 en Yemen y Arabia Saudita.

FIEBRE POR LA GARRAPATA DE COLORADO

Algunos arbovirus son miembros de la familia Reoviridae (véase el cap. 37). La fiebre por la garrapata de Colorado se clasifica en el género *Coltivirus.* La enfermedad del caballo africana y los virus de la lengua azul corresponden al género *Orbivirus.* Los rotavirus y los ortorreovirus no tienen vectores artrópodos.

La fiebre por la garrapata de Colorado, también denominada fiebre de la montaña o fiebre por la garrapata, es transmitida por una garrapata (cuadro 38-1). El virus al parecer es antigénicamente diferente de otros virus conocidos y sólo se reconoce un tipo antigénico. La fiebre por la garrapata de Colorado es una enfermedad febril leve, sin exantema. El periodo de incubación es de cuatro a seis días. La enfermedad tiene una instauración súbita con fiebre y mialgias. Los síntomas consisten en cefaleas, mialgias y artralgias, letargias y náusea y vómito. La temperatura suele ser difásica. Después del primer ataque de dos días, el paciente puede sentirse bien, pero los síntomas reaparecen y duran tres a cuatro días más. La enfermedad en el ser humano cede espontáneamente (cuadro 38-2).

El virus puede aislarse de sangre entera por la inoculación de cultivos celulares. La viremia puede persistir por cuatro semanas o más. Los análisis de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa permiten detectar RNA viral en eritrocitos y en plasma. Aparecen anticuerpos neutralizantes específicos en la segunda semana de la enfermedad que se pueden detectar mediante pruebas de reducción en placa. Otros análisis serológicos son ELISA y las pruebas de anticuerpo fluorescente. Se considera que una sola infección produce una inmunidad duradera.

Cada año se notifican varios centenares de casos de fiebre por la garrapata de Colorado pero se considera que constituyen sólo una fracción de todos los casos. La enfermedad está limitada a zonas donde está distribuida la garrapata de la madera *Dermacentor andersoni,* principalmente en la parte occidental de Estados Unidos y en el suroeste de Canadá. Los pacientes han estado en una zona infestada por garrapatas antes de comenzar con los síntomas. Los casos ocurren principalmente en varones jóvenes, el grupo con mayor exposición a las garrapatas. *D. andersoni* recogida de la naturaleza puede portar el virus. Esta garrapata es un verdadero portador pasivo y el virus se transmite por vía transovárica por la hembra adulta. La infección natural ocurre en roedores, los cuales funcionan como hospedadores para las etapas inmaduras de la garrapata.

No se dispone de ningún tratamiento específico. La enfermedad puede prevenirse si se evitan las zonas infestadas por la garrapata mediante el empleo de prendas protectoras o de sustancias químicas repelentes.

FIEBRES HEMORRÁGICAS TRANSMITIDAS POR ROEDORES

Las fiebres hemorrágicas zoonóticas transmitidas por roedores son las fiebres asiática (p. ej., virus de Hantaan y Seúl), sudamericana (p. ej., virus de Junin y Machupo) y africana (virus de Lassa). Los hantavirus también producen un síndrome pulmonar por hantavirus en los países de América (p. ej., el virus sin nombre). Se desconocen los reservorios naturales de los virus de Marburg y Ébola (fiebre hemorrágica africana) pero se sospecha que son roedores o murciélagos. Los virus causantes se clasifican como bunyavirus, arenavirus y filovirus (cuadro 38-1).

ENFERMEDADES POR BUNYAVIRUS

Los hantavirus se clasifican en el género *Hantavirus* de la familia Bunyaviridae. Los virus se encuentran en todo el mundo y producen dos enfermedades humanas graves y a menudo mortales: la fiebre hemorrágica con el síndrome renal (HFRS, *hemorrhagic fever with renal syndrome*) y el síndrome pulmonar por hantavirus (HOS, *hantavirus pulmonary syndrome*). Se estima que cada año se presentan 100 000 a 200 000 casos de infección por hantavirus. Existen varios hantavirus distintivos, cada uno de los cuales se asocia a un hospedador roedor específico. Las infecciones por virus en los roedores son de por vida y no tienen efectos nocivos. La transmisión entre los roedores al parecer ocurre en forma horizontal y la transmisión al ser humano ocurre por la inhalación de aerosoles de secreciones de roedores (orina, heces, saliva). La presencia de enfermedades asociadas a hantavirus está determinada por la distribución geográfica de los reservorios de roedores.

Fiebre hemorrágica con síndrome renal

La HFRS es una infección viral aguda que produce una nefritis intersticial que puede desencadenar insuficiencia renal aguda e insuficiencia renal en las formas graves de la enfermedad. Los virus Hantaan y Dobrava producen la enfermedad grave que ocurre en Asia sobre todo en China, Rusia y Corea, así como en Europa, principalmente en los Balcanes. Puede presentarse hemorragia generalizada y choque con una tasa de mortalidad de casos de 5 a 15%. Una forma moderada de HFRS causada por el virus de Seúl se presenta en toda Euroasia. En una forma clínica leve, denominada nefropatía epidémica, que es causada por el virus de Puumala y permanece en Escandinavia, la nefritis por lo general se resuelve sin complicaciones hemorrágicas y los fallecimientos son infrecuentes (<1%).

En las tropas de las Naciones Unidas, durante la guerra coreana, ocurrieron más de 2 000 casos de HFRS, pero no se aisló el virus de Hantaan hasta 1976 en Corea, en un roedor, *Apodemus agrarius.*

Se sabe que las ratas urbanas se infectan de manera persistente con hantavirus y se ha señalado que las ratas en buques comerciales pueden haber dispersado los hantavirus por todo el mundo. Las encuestas serológicas señalaban que las ratas pardas de Noruega en Estados Unidos están infectadas con el virus de Seúl. Se demostró que las ratas de laboratorio infectadas eran fuentes de brotes epidémicos de Hantaan en institutos científicos de Europa y Asia, pero estas infecciones no se han detectado en ratas de laboratorio criadas en Estados Unidos. Las infecciones por hantavirus han ocurrido en personas cuyas ocupaciones les imponen el contacto con ratas (p. ej., estibadores).

El HFRS se trata utilizando el tratamiento de apoyo. La prevención depende del control de los roedores y de la protección contra la exposición a sus excrementos y material contaminado.

Síndrome pulmonar por hantavirus

En 1993 ocurrió en Estados Unidos un brote epidémico de enfermedad respiratoria grave, ahora designado el síndrome pulmonar por hantavirus (HPS, *hantavirus pulmonary syndrome*). Se observó que se debía a un nuevo hantavirus (virus sin nombre). Este microorganismo fue el primer hantavirus reconocido como causa de la enfermedad en Norteamérica y el primero en causar un síndrome de dificultad respiratoria del adulto principalmente. Desde entonces, se han detectado múltiples hantavirus en roedores del norte, el centro y Sudamérica (cuadro 38-2).

El ratón de patas blancas (*Peromyscus maniculatus*) es el principal roedor que porta el virus sin nombre. Dicho roedor tiene una amplia distribución y casi el 10% de los analizados muestran signos de infección por el virus sin nombre. Otros hantavirus que se sabe producen el HPS en Estados Unidos son el virus de Nueva York, el virus del Canal Griego Negro y el virus de Bayou, cada uno de los cuales tiene un hospedador roedor diferente. El HPS es más frecuente en Sudamérica que en Estados Unidos. El virus de los Andes es un hantavirus causal y se encuentra en Argentina y Chile. Se ha identificado el virus choclo en Panamá.

Las infecciones por hantavirus no son frecuentes y las infecciones asintomáticas al parecer son infrecuentes, sobre todo por el virus sin nombre. El HPS en general es grave y se han comunicado tasas de mortalidad de 30% o más. Esta tasa de mortalidad de casos es sustancialmente más elevada que la de otras infecciones por

hantavirus. La enfermedad comienza con fiebre, cefalea y mialgias, seguida de edema pulmonar rápidamente progresivo, que a menudo desencadena dificultad respiratoria grave. No hay signos de hemorragia. Se detectan antígenos hantavirales en células endoteliales y macrófagos de pulmón, corazón, bazo y ganglios linfáticos. La patogenia de la HPS implica la alteración funcional del endotelio vascular. Pocas veces ocurre la transmisión interpersonal de los hantavirus aunque se ha observado durante brotes epidémicos de HPS causado por el virus de los Andes.

El diagnóstico de laboratorio depende de la detección del ácido nucleico viral mediante la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa, la detección de antígenos virales en tejidos fijados mediante inmunohistoquímica o la detección de anticuerpos específicos utilizando proteínas recombinantes. Se puede utilizar una prueba de ELISA para detectar anticuerpos IgM en el diagnóstico de las infecciones agudas. Una elevación de cuatro tantos en el valor cuantitativo de anticuerpo IgG entre los sueros de fase aguda y convaleciente es diagnóstica. Los anticuerpos IgG son de larga duración. El aislamiento de los hantavirus es difícil y exige el empleo de instalaciones de recolección.

El tratamiento actual del HPS consiste en el mantenimiento de la oxigenación adecuada y el apoyo del funcionamiento hemodinámico. El fármaco antiviral ribavirina tiene cierta utilidad como tratamiento del síndrome pulmonar por hantavirus. Las medidas preventivas se basan en el control de los roedores y en evitar el contacto con ellos y sus excrementos. Debe tenerse cuidado para evitar la inhalación de secreciones secas en aerosol al limpiar las estructuras infestadas por roedores.

ENFERMEDADES POR ARENAVIRUS

Los arenavirus se tipifican por las partículas pleomórficas que contienen un genoma de RNA segmentado; están rodeadas por una envoltura con plepómeros grandes de forma de bastón; y miden 50 a 300 nm de diámetro (media de 110 a 130 nm) (fig. 38-1). El genoma del arenavirus consta de dos moléculas de RNA monocatenario con organización genética bipolar inusual.

Basado en datos de frecuencia, los arenavirus se dividen en virus del Viejo Mundo (p. ej., el virus de Lassa) y los virus del Nuevo Mundo. Esta última clasificación se subdivide en tres grupos en los que el grupo A comprende el virus de Pichinde y el grupo B contiene los virus patógenos humanos, como el virus de Machupo. Algunas cepas, como el virus del arroyo de Whitewater, al parecer son recombinaciones entre los linajes de los virus del Nuevo Mundo A y B.

Los arenavirus establecen infecciones crónicas en roedores. Cada virus por lo general se relaciona con una sola especie de roedor. La distribución geográfica de un determinado arenavirus es determinada en parte por la gama de sus hospedadores roedores. Los seres humanos se infectan cuando entran en contacto con secreciones de roedores. Algunos virus producen fiebre hemorrágica grave. Se sabe que diversos arenavirus infectan el feto y pueden causar muerte fetal en el ser humano.

Múltiples arenavirus producen enfermedad en el ser humano, incluidos los de Lassa, Junin, Machupo, Guanarito, Sabia, arroyo de Whitewater y de la coriomeningitis linfocítica (LCM, *lymphocytic choriomeningitis*) (cuadro 38-1). Puesto que estos arenavirus se transmiten por aerosoles, se debe tener gran cuidado al procesar especímenes de roedores y personas. En el laboratorio se requieren condiciones de alta calidad en la manipulación de recipientes. La transmisión de arenavirus en los hospedadores roedores naturales puede presentarse de maneras vertical y horizontal. La leche, la saliva y la orina pueden intervenir en la transmisión. Se piensa que los vectores artrópodos no intervienen.

En la figura 38-8 se muestra un ciclo de replicación generalizada. Los ribosomas del hospedador son incorporados en la cápside durante la morfogénesis de las partículas virales. Los arenavirus no suelen producir efectos citopáticos cuando se replican en células cultivadas.

Fiebre de Lassa

Los primeros casos reconocidos de la fiebre de Lassa se presentaron en 1969 en estadounidenses asentados en el poblado nigeriano de Lassa. El virus de Lassa es muy virulento: la tasa de mortalidad es de casi 15% en pacientes hospitalizados por su infección. En general, alrededor de 1% de las infecciones por el virus de Lassa son mortales. En África Occidental, se estima que la tasa anual puede alcanzar varios centenares de miles de infecciones y 5 000 decesos. El virus es activo en todos los países de África Occidental localizados entre Senegal y la República del Congo. Algunos casos esporádicos identificados fuera de la zona endémica suelen ser importados, a menudo por personas que regresan de África Occidental.

El periodo de incubación para la fiebre de Lassa es de una a tres semanas a partir del tiempo de la exposición. La enfermedad puede afectar a muchos órganos y sistemas, aunque los síntomas varían en cada paciente. La instauración es gradual con fiebre, vómito y dorsalgia, así como dolor torácico. La enfermedad se caracteriza por fiebre muy alta, úlceras en la boca, mialgias intensas, exantemas con hemorragias, neumonía y lesiones cardiacas y renales. La sordera es una complicación frecuente que afecta a casi 25% de los casos durante el restablecimiento; a menudo es permanente.

Las infecciones por el virus de Lassa producen deceso fetal en más del 75% de las mujeres embarazadas. Durante el tercer trimestre, la mortalidad materna se incrementa (30%) y la fetal es muy elevada (>90%). Ocurren casos febriles benignos.

El diagnóstico suele consistir en la detección de anticuerpos IgM e IgG mediante ELISA. Se puede utilizar la inmunohistoquímica para detectar antígenos virales en especímenes de tejidos en la necropsia. Se pueden detectar secuencias virales utilizando los análisis de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en laboratorios de investigación.

Una rata doméstica (*Mastomys natalensis*) es el principal portador roedor de virus de Lassa. Las medidas de control de los roedores constituyen una forma de minimizar la propagación del virus pero a menudo no son prácticas en las zonas endémicas. El virus se puede transmitir por el contacto humano. Cuando el virus se propaga en un hospital, el contacto humano es el mecanismo de transmisión. Los procedimientos de enfermería meticulosos para impedir la transmisión y las precauciones habituales para evitar el contacto con la sangre y los líquidos corporales contaminados por el virus pueden prevenir la transmisión al personal hospitalario.

El fármaco antiviral ribavirina es el compuesto de elección para tratar la fiebre de Lassa y es muy eficaz si se administra en las primeras etapas del proceso patológico. No se dispone de ninguna vacuna, aunque un recombinante viral de la vacuna que expresa el gen de la glucoproteína del virus de Lassa puede inducir la inmunidad protectora tanto en cobayos como en monos.

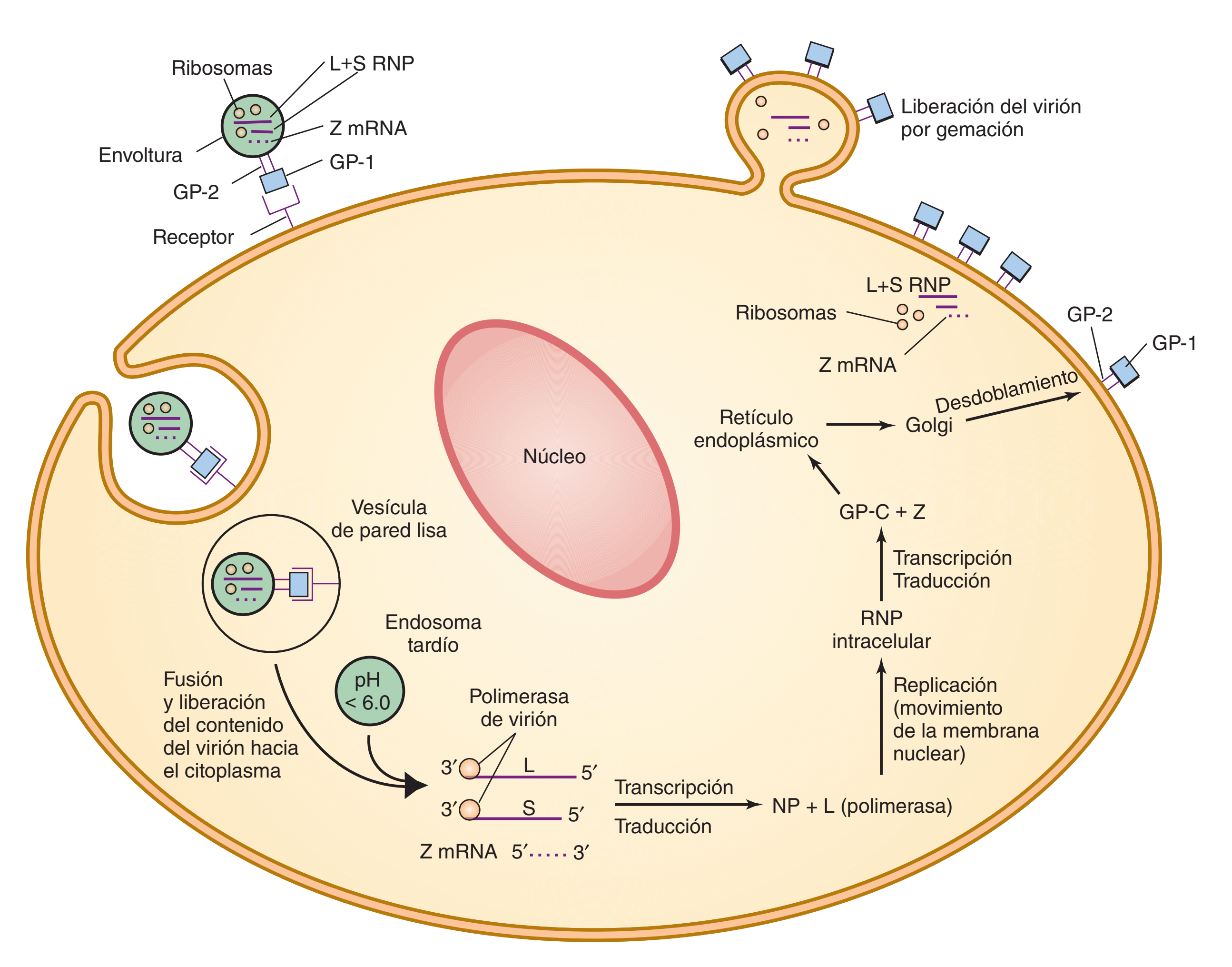


FIGURA 38-8 El ciclo de vida de arenavirus. (Cortesía de PJ Southern.)

Fiebres hemorrágicas sudamericanas

Con base en estudios serológicos y filogenéticos del RNA viral, los arenavirus sudamericanos se consideran todos miembros del complejo Tacaribe. La mayor parte tiene reservorios roedores cricétidos. Los virus tienden a tener una prevalencia en una zona en concreto, de distribución limitada. Se han descubierto múltiples virus; los microorganismos patógenos humanos importantes son los virus íntimamente relacionados de Junin, Machupo, Guanarito y Sabia. La hemorragia es más frecuente en las fiebres de Argentina (Junin) y otras fiebres hemorrágicas sudamericanas que en la fiebre de Lassa.

La **fiebre hemorrágica de Junin** (fiebre hemorrágica argentina) es un importante problema de salud pública en determinadas zonas agrícolas de Argentina; se han comunicado más de 18 000 casos entre 1958 y 1980 con una tasa de mortalidad de 10 a 15% en los pacientes no tratados. Cada año siguen presentándose muchos casos. La enfermedad tiene una notable variación estacional y la infección ocurre casi exclusivamente en agricultores que trabajan en campos de maíz y trigo y que están expuestos al roedor que la porta, *Calomys musculinus.*

El virus de Junin produce inmunodepresión mediada por factores humorales y células; las muertes debidas a la fiebre hemorrágica de Junin pueden estar relacionadas con una incapacidad para iniciar una respuesta inmunitaria mediada por células. La administración de plasma humano de etapa convaleciente a los pacientes durante la primera semana de la enfermedad redujo la tasa de mortalidad desde 15 a 30% hasta 1%. Algunos de estos pacientes presentan un síndrome neurológico autolimitado tres a seis semanas después. Se utiliza una vacuna eficaz de virus de Junin vivos atenuados para vacunar a las personas con alto riesgo en Sudamérica.

El primer brote de la **fiebre hemorrágica de Machupo** (fiebre hemorrágica boliviana) se identificó en Bolivia en 1962. Se estimó que 2 000 a 3 000 personas eran afectadas por la enfermedad con una tasa de mortalidad de casos del 20%. En Bolivia se llevó a cabo un programa de control eficaz de los roedores dirigido contra *Calomys callosus* infectados, el hospedador del virus de Machupo, y esto ha reducido considerablemente el número de casos de la fiebre referida.

En 1990 se identificó el **virus de Guanarito** (el microorganismo causante de la **fiebre hemorrágica venezolana**); tiene una tasa de mortalidad de casi 33%. Surgió probablemente al talar la selva para establecer granjas pequeñas. El **virus de Sabia** se aisló en 1990 en un caso mortal de fiebre hemorrágica en Brasil. Ambos virus, de Guanarito y de Sabia, producen una enfermedad sintomática que se parece a la fiebre hemorrágica de Argentina y probablemente tiene tasas de mortalidad similares.

Coriomeningitis linfocítica

El virus de la coriomeningitis linfocítica se descubrió en 1933 y está disperso en Europa y en los países de América. Su vector

natural es el ratón doméstico silvestre, *Mus musculus*. Es endémico en los ratones pero también puede infectar a otros roedores. Casi 5% de los ratones en todo Estados Unidos portan el virus. Puede infectar de manera crónica a colonias de ratones o cricetos e infectar a roedores mascotas.

El virus de la coriomeningitis linfocítica LCM (*lymphocytic choriomeningitis*) a veces se transmite al ser humano, al parecer a través de los excrementos de ratones. No hay pruebas de la diseminación interpersonal horizontal. La LCM en el ser humano es una enfermedad aguda que se manifiesta por meningitis aséptica o un padecimiento seudogripal sistémico leve. Pocas veces se presenta una encefalomielitis grave o una enfermedad sistémica mortal en personas sanas. La mortalidad es inferior a 1%. Muchas infecciones son asintomáticas. El periodo de incubación suele ser de una a dos semanas si la enfermedad persiste durante una a tres semanas.

Las infecciones por el virus de la LCM pueden ser graves en las personas con alteración del sistema inmunitario. En 2005, cuatro receptores de trasplante de órganos sólidos en Estados Unidos se infectaron de un donador de órgano común. Tres de los cuatro receptores fallecieron 23 a 27 días después del trasplante. Se determinó que la fuente del virus era un criceto recién adquirido como mascota por el donador de órganos. El virus de la LCM también puede transmitirse verticalmente de la madre al feto y la infección del feto en las primeras etapas del embarazo puede desencadenar anomalías graves, como hidrocefalia, ceguera y muerte fetal.

Las infecciones suelen diagnosticarse en forma retrospectiva mediante el estudio serológico utilizando ELISA para anticuerpos de IgM e IgG. Otros métodos diagnósticos son la tinción inmunohistoquímica de los tejidos por antígenos virales, la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa para ácido nucleico viral y el cultivo viral utilizando células de Vero. Los estudios serológicos en zonas urbanas han demostrado tasas de infección en el ser humano que fluctúan de 2 a 5%.

Los estudios experimentales han demostrado que la respuesta inmunitaria puede ser protectora o nociva en los ratones infectados por el virus de la coriomeningitis linfocítica. Los linfocitos T son necesarios para controlar la infección pero también desencadenan enfermedad mediada por factores inmunitarios. El resultado depende de la edad, el estado inmunitario de los antecedentes genéticos del ratón, así como la vía de inoculación del virus. Los ratones infectados en la edad adulta pueden presentar una enfermedad rápidamente mortal a consecuencia de una respuesta inflamatoria mediada por linfocitos T en el cerebro. Los ratones con infección congénita o neonatal no se enferman de manera aguda, pero tienen una infección persistente de por vida. No logran despejar la infección porque se infectaron antes que madurara el sistema inmunitario celular. Presentan una respuesta de anticuerpo potente que puede desencadenar complejos de antígeno-anticuerpo virales en la circulación sanguínea y una enfermedad por complejos inmunitarios.

ENFERMEDADES POR FILOVIRUS

Clasificación y propiedades de los filovirus

Los filovirus son partículas pleomórficas que aparecen como largas hebras filamentosas o con formas singulares de 80 nm de diámetro (fig. 38-1). Las partículas por unidad de longitud son desde 665 nm (Marburg) hasta 805 nm (Ébola). Los dos filovirus conocidos (virus de Marburg y virus de Ébola) son antigénicamente diferentes y se clasifican en géneros distintos (cuadro 38-1). Los cuatro subtipos del virus de Ébola (Zaire, Sudán, Reston, Costa de Marfil) difieren entre sí hasta en 40% a nivel del nucleótido pero comparten algunos epitopos frecuentes. Los subtipos al parecer son estables en el tiempo.

El genoma grande del filovirus es un RNA monocatenario, no segmentado de polaridad negativa de 19 kb de tamaño y contiene siete genes (fig. 38-9). Una estrategia de codificación inusual en los virus de Ébola consiste en que la glucoproteína de la envoltura (EP, *envelope glycoprotein*) es codificada en dos marcos de lectura y para expresarse es necesaria la edición transcripcional o el cambio de marco de lectura traduccional. La glucoproteína constituye las espigas de la superficie viral en forma de recortes de 10 nm de longitud. Los viriones son liberados a través de brotes de la membrana plasmática.

Los filovirus son muy virulentos y exigen instalaciones para una recolección máxima (nivel de bioseguridad 4) para trabajos de laboratorio. La infecciosidad de filovirus es destruida por el calentamiento durante 30 min a una temperatura de 60°C, mediante radiación ultravioleta y γ, con solventes de lípidos y mediante colorantes y desinfectantes fenólicos. Se desconocen los hospedadores naturales y los vectores, si es que los hay.

Fiebres hemorrágicas africanas (virus de Marburg y de Ébola)

Los virus de Marburg y Ébola son muy virulentos en primates humanos y no humanos, con infecciones que por lo general terminan en el fallecimiento del paciente. El periodo de incubación es de tres a nueve días para la enfermedad por el virus de Marburg y de dos a 21 días para la infección por el virus de Ébola. Producen enfermedades agudas similares que se caracterizan por fiebre, cefalea, faringitis y mialgias, y se acompañan de dolor abdominal, vómito, diarrea y exantema, con hemorragia interna y externa que a menudo desencadena choque y muerte. Los filovirus tienen un tropismo para las células de sistemas de macrófagos, células dendríticas, fibroblastos intersticiales y células endoteliales. Se encuentran valores muy altos del virus en muchos tejidos, incluidos hígado, bazo, pulmones y riñones, así como en la sangre y otros líquidos. Estos virus tienen las tasas de mortalidad más altas (25 a 90%) de todas las fiebres hemorrágicas virales.

La enfermedad por el virus de Marburg se reconoció en 1967 entre técnicos de laboratorio expuestos a tejidos de monos verdes africanos (*Cercopithecus aethiops*) importados a Alemania y Yugoslavia. La transmisión de los pacientes al personal se produjo con elevadas tasas de mortalidad. Las encuestas de anticuerpo han señalado que el virus está presente en África Oriental y produce infección en simios y seres humanos. Los casos registrados de la enfermedad son infrecuentes, pero se han documentado brotes epidémicos en Kenia, Sudáfrica, República Democrática del Congo y, en 2005, en Angola. El virus de Marburg puede infectar cobayos, ratones, cricetos, monos y diversos sistemas de cultivos celulares.

El virus de Ébola fue descubierto en 1976 cuando ocurrieron dos epidemias graves de fiebre hemorrágica en Sudán y Zaire (ahora la República Democrática del Congo). Los brotes comprendieron más de 500 casos y por lo menos 400 decesos debidos a fiebre hemorrágica clínica. En cada brote, el personal hospitalario se infectó por el contacto cercano y prolongado con

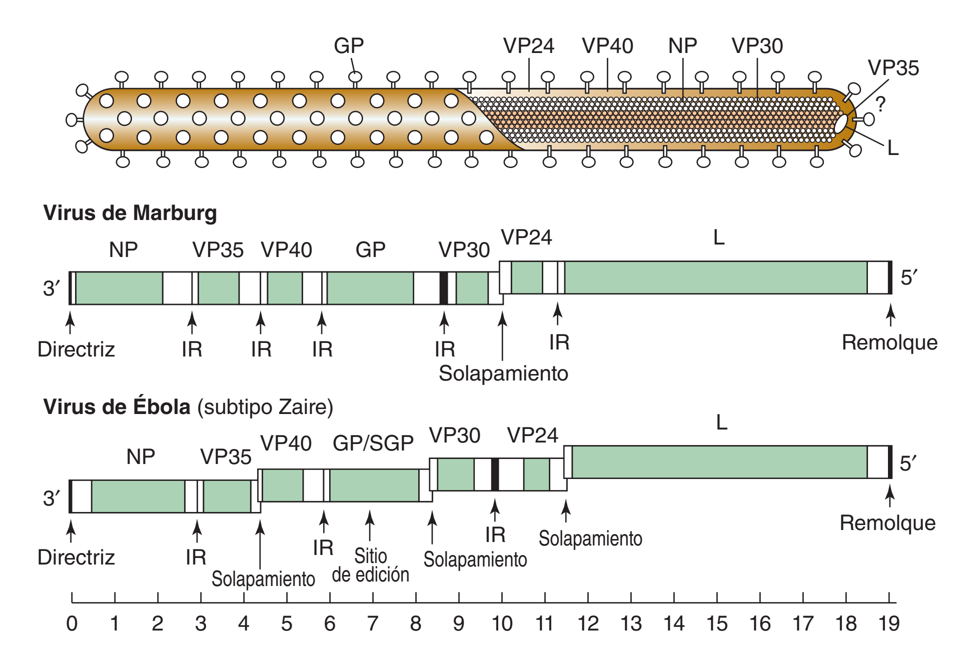


FIGURA 38-9 Estructura del virión y organización del genoma de los filovirus. Se muestra la organización del genoma del virus de Marburg y el virus de Ébola subtipo Zaire. El diagrama del virión muestra el RNA monocatenario de polaridad negativa encerrado en la nucleocápside y envuelto en una membrana de bicapa lipídica. Las proteínas estructurales asociadas a la nucleocápside son la nucleoproteína (NP), VP30, VP35 y la proteína de polimerasa (L). Las proteínas relacionadas con la membrana son la proteína de la matriz (VP40), VP24 y GP (glucoproteína de peplómero). Los genes que codifican las proteínas estructurales se identifican si se trazan en escala en las estructuras del genoma. Las zonas sombreadas denotan las regiones de polaridad positiva y las zonas blancas las secuencias de polaridad negativa. Los genes comienzan con un lugar de inicio de transcripción conservado y terminan con un lugar de detenimiento de la transcripción (poliadenilación); los genes adjuntos son separados entre sí por una región intergénica (IR) o se solapan uno a otro. El lugar en el cual se añade la A adicional dentro del gen de GP durante la edición transcripcional se indica en el diagrama del virus de Ébola. El producto génico primario del gen de GP de los virus de Ébola es SGP, una glucoproteína no estructural secretada. En los extremos 3′ y 5′ de los genomas están las secuencias directrices y rastreadoras complementarias, respectivamente. (Adaptada con autorización de Peters CJ et al: Filoviridae: Marburg and Ebola viruses. En: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

los pacientes, su sangre o sus secreciones. Estos subtipos del virus de Ébola (Zaire, Sudán) son muy virulentos. El tiempo medio desde el inicio de los síntomas hasta la muerte del paciente es de siete a ocho días.

Se han presentado brotes subsiguientes de fiebre hemorrágica de Ébola en Uganda (2000), República del Congo (1995, 2001, 2002, 2003), Gabón (1994, 1996, 1997, 2002), Sudáfrica (1996) y Sudán (2004). Las epidemias a menudo se detienen por la instauración de los métodos de enfermería para impedir la transmisión y la capacitación del personal hospitalario.

Desde que se descubrió el virus de Ébola, se habían reconocido aproximadamente 1 850 casos hacia 2004, con más de 1 200 decesos. El brote epidémico en 2003 fue reconocido inicialmente por un gran número de gorilas y chimpancés muertos.

En 1989, las infecciones causadas por un filovirus muy relacionado con el virus de Ébola fueron detectadas en monos cinomolgus (*Macaca fascicularis*) importados a Estados Unidos desde las Filipinas y mantenidos en una instalación de cuarentena en Virginia. La infección se diseminó sólo a algunas de las 149 personas que estuvieron en contacto con los monos infectados o sus tejidos, pero ninguno de los trabajadores se enfermó, lo que indica que el virus (cepa Reston) posee escasa patogenicidad para el ser humano.

La elevada mortalidad entre los cerdos en las Filipinas en 2008 llevó al descubrimiento del virus de Ébola cepa de Reston en animales diferentes a los primates. Cinco individuos que tuvieron contacto con cerdos enfermos formaron anticuerpos contra el virus de Ébola cepa Reston, pero se mantuvieron sanos, lo que confirma que esta cepa de virus puede infectar al ser humano sin producir enfermedad.

Las infecciones por filovirus al parecer son inmunosupresoras. Los casos mortales a menudo muestran alteraciones de la respuesta inmunitaria humoral. Sin embargo, los anticuerpos de filovirus aparecen a medida que los pacientes se restablecen y son detectables mediante el análisis de inmunosorbente ligado a enzima (ELISA). Los antígenos virales en el suero pueden detectarse mediante ELISA, lo que proporciona una prueba de detección rápida de muestras humanas. La reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa también se puede utilizar en especímenes clínicos. Un riesgo para llevar a cabo las pruebas para filovirus es que las pruebas del paciente y otros especímenes pueden contener virus virulentos. Las pruebas pueden llevarse a cabo sólo bajo condiciones de máximo aislamiento biológico. Se pueden cultivar cepas de virus recientes en linajes celulares como los linajes Vero y los linajes celulares de monos MA-104.

Es probable que los virus de Marburg y Ébola tengan un hospedador que los porta, tal vez un roedor o un murciélago y que se transmita al ser humano sólo en forma accidental. Los monos no se consideran portadores, ya que la mayor parte de los animales infectados mueren con demasiada rapidez para mantener la supervivencia del virus. Las infecciones humanas son muy contagiosas para los contactos humanos, por lo general por el contacto directo con la sangre o los líquidos corporales. Es característico que los brotes epidémicos de la infección por el virus de Ébola se relacionen con introducción del virus

en la comunidad por una persona infectada, seguida de la diseminación de persona a persona, a menudo en las instalaciones médicas.

Puesto que todavía se desconocen los portadores naturales de los virus de Marburg y Ébola, no se pueden organizar actividades de control. El empleo de las instalaciones de aislamiento en centros hospitalarios sigue siendo el medio más eficaz de controlar los brotes de enfermedad de Ébola. Deben ponerse en práctica las técnicas estrictas de enfermería para impedir la transmisión, y tomarse cuidados extremos en el manejo de la sangre, las secreciones, los tejidos y los desechos infectados. Al personal que interviene en la transportación y el cuidado de primates no humanos se le debe dar instrucciones sobre los riesgos potenciales de la manipulación de estos animales.

No se dispone de ningún tratamiento antiviral específico. El tratamiento tiene por objeto mantener la función renal y el equilibrio electrolítico y combatir la hemorragia y el choque. No se dispone de ninguna vacuna, pero se están desarrollando vacunas opcionales.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un hombre de 74 años de edad presenta fiebre, malestar y faringitis, seguidos poco después de náusea, vómito y luego estupor. Se diagnostica encefalitis equina oriental. El control de esta enfermedad en el ser humano podría lograrse mediante la erradicación de uno de los siguientes grupos de animales. ¿Cuál es?
   (A) Caballos
   (B) Aves
   (C) Moscas de la arena
   (D) Mosquitos
   (E) Garrapatas
2. Un arbovirus frecuente en Oriente Medio, África y el suroeste de Asia apareció inicialmente en Nueva York en 1999. Hacia 2002 el virus se había diseminado por toda la porción continental de Estados Unidos. Este arbovirus es un miembro del complejo antigénico de la encefalitis japonesa B. ¿Cuál es?
   (A) Virus de la encefalitis japonesa B
   (B) Virus de la encefalitis transmitida por la garrapata
   (C) Virus del Nilo Occidental
   (D) Virus del dengue
   (E) Virus de la fiebre del Valle de Rift
3. ¿Cuál de las siguientes descripciones o aseveraciones en torno a la fiebre de Lassa es correcta?
   (A) Se encuentra en África Oriental
   (B) No ocurre la transmisión entre humanos
   (C) Pocas veces produce muerte o complicaciones
   (D) Ocurre por el contacto con la rata del caballo *Mastomys*
   (E) No se dispone de ningún fármaco que sea eficaz para tratar la fiebre de Lassa
4. Los arbovirus se transmiten por artrópodos succionadores de sangre de un hospedador vertebrado a otro. Los arbovirus se encuentran en las siguientes familias de virus, excepto una. ¿Cuál de las siguientes?
   (A) Togaviridae
   (B) Flaviviridae
   (C) Bunyaviridae
   (D) Reoviridae
   (E) Arenaviridae
5. Un hombre de 27 años de edad presenta fiebre, escalofríos, cefalea y dorsalgia. Cuatro días más tarde presenta fiebre alta e ictericia. Se diagnostica fiebre amarilla. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a la fiebre amarilla es correcta?
   (A) El virus es transmitido por mosquitos culícidos en la forma urbana de la enfermedad
   (B) Los simios de la selva son portadores importantes del virus de la fiebre amarilla
   (C) La fiebre amarilla a menudo tiene complicaciones a largo plazo
   (D) Todas las infecciones desencadenan enfermedad manifiesta
   (E) La ribavirina es un tratamiento específico
6. Con respecto al caso de la pregunta 5, ¿en cuál región o regiones del mundo ocurre la fiebre amarilla?
   (A) Asia
   (B) África y Sudamérica
   (C) Norteamérica
   (D) África y Oriente Medio
   (E) En todo el mundo
7. Las fiebres hemorrágicas africanas, por los virus de Marburg y Ébola, son enfermedades graves que a menudo terminan en la muerte del paciente. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es más exacta con respecto al virus de Ébola?
   (A) Se disemina por el contacto con la sangre u otros líquidos corporales
   (B) Es transmitida por mosquitos
   (C) Es un flavivirus
   (D) Produce infecciones pero ninguna enfermedad en primates humanos
   (E) Está antigénicamente relacionado con el virus de la fiebre de Lassa
8. ¿Cuál de los siguientes grupos puede vacunarse en forma sistemática con la vacuna de la fiebre amarilla sin aspectos de seguridad especiales?
   (A) Niños menores de nueve meses de edad
   (B) Mujeres embarazadas
   (C) Personas con alteraciones del sistema inmunitario
   (D) Todas las anteriores
   (E) Ninguna de las anteriores
9. ¿Cuál de las siguientes descripciones corresponde a los hantavirus, que son microorganismos patógenos emergentes en Estados Unidos?
   (A) Son arenavirus
   (B) Son transmitidos rápidamente de un ser humano a otro
   (C) Producen síntomas seudogripales seguidos rápidamente de insuficiencia respiratoria aguda
   (D) Son adquiridos por la inhalación de aerosoles de orina de ciervo
   (E) Muestran una alta frecuencia de variación antigénica
10. Un microbiólogo realizaba una necropsia en una cabina de bioseguridad con flujo laminar en una urraca azul propuesta como parte de un programa de vigilancia de arbovirus total. Se laceró su pulgar mientras utilizaba el bisturí para extraer el cerebro del ave. Cuatro días después presentó cefalea, mialgias y ataque al estado general seguido de fiebres, sudaciones y linfadenopatía. Dos días más tarde comenzó un exantema en su cara y se diseminó hacia el tronco, los brazos y las piernas, persistiendo durante casi tres días. Procuró atención médica y refirió un antecedente de fiebre por dengue, así como inmunizaciones con las vacunas contra la fiebre amarilla y contra la encefalitis japonesa B. Una muestra de suero obtenida el día de la lesión contenía anticuerpo IgG antiflavivirus, según una prueba de enzimoinmunoanálisis de adsorción. Una muestra de suero obtenida 13 días después que comenzó la enfermedad demostró un incremento del valor cuantitativo de anticuerpo IgG antiflavivirus y la presencia de anticuerpo IgM del virus del Nilo Occidental. ¿El médico podría concluir que la causa más probable de la enfermedad del microbiólogo fue cuál virus?
    (A) Virus del dengue
    (B) Virus de la fiebre amarilla
    (C) Virus del Nilo Occidental

(D) Esofagitis de St. Louis
(E) No identificable hasta que los valores de anticuerpo neutralizante de sueros pares pudiesen evaluarse en comparación con un grupo de arbovirus

11. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones con respecto al virus del dengue no es correcta?
    (A) Es la enfermedad viral más importante transmitida por el mosquito que afecta al ser humano
    (B) Se distribuye en todo el mundo en regiones tropicales
    (C) Puede causar una fiebre hemorrágica grave
    (D) Hay un tipo antigénico individual
    (E) Una forma de la enfermedad se caracteriza por un incremento de la permeabilidad vascular
12. ¿Cuál de las siguientes enfermedades que se presentan en Estados Unidos carece de un vector conocido?
    (A) Síndrome pulmonar por hantavirus
    (B) Fiebre del Nilo Occidental
    (C) Encefalitis de La Crosse
    (D) Fiebre de la garrapata de Colorado
    (E) Encefalitis de St. Louis

Respuestas

1. D	4. E	7. A	10. C
2. C	5. B	8. E	11. D
3. D	6. B	9. C	12. A

BIBLIOGRAFÍA

Brinton MA: The molecular biology of West Nile Virus: A new invader of the western hemisphere. Annu Rev Microbiol 2002;56:371. [PMID: 12142476]

Calisher CH, Childs JE, Field HE, Holmes KV, Schountz T: Bats: Important reservoir hosts of emerging viruses. Clin Microbiol Rev 2006;19:531. [PMID: 16847084]

Feldmann H, Geisbert T, Kawaoka Y (guest editors): Filoviruses: Recent advances and future challenges. J Infect Dis 2007;196(Suppl 2). [Entire issue.]

Griffin DE: Alphaviruses. In: *Fields Virology*, 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Gubler DJ, Kuno G, Markoff L: Flaviviruses. In: *Fields Virology*, 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Mills JN et al: Hantavirus pulmonary syndrome—United States: Updated recommendations for risk reduction. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm Rep 2002;51(RR-9):1.

Shu PY, Huang JH: Current advances in dengue diagnosis. Clin Diagnostic Lab Immunol 2004;11:642. [PMID: 15242935]

Soldan SS, González-Scarano F: Emerging infectious diseases: The *Bunyaviridae*. J Neurovirol 2005;11:412. [PMID: 16287682]

Süss J: Epidemiology and ecology of TBE relevant to the production of effective vaccines. Vaccine 2003;21(Suppl 1):S19. [PMID: 12628811]

WHO position paper: Japanese encephalitis vaccines. World Health Org Wkly Epidemiol Rec 2006;81:331.

WHO position paper: Yellow fever vaccine. World Health Org Wkly Epidemiol Rec 2003;78:349.



CAPÍTULO

39

Ortomixovirus (virus de la influenza)

Las enfermedades respiratorias son causa de más de la mitad de todas las enfermedades agudas que se presentan cada año en Estados Unidos. Los **Orthomyxoviridae** (virus de la influenza) son un factor importante que determina la morbilidad y la mortalidad causadas por las enfermedades respiratorias y los brotes de infección a veces se presentan en epidemias mundiales. La influenza ha causado millones de muertes en todo el mundo. La mutabilidad y la elevada frecuencia de reensamble genético y los cambios antigénicos resultantes en las glucoproteínas de la superficie viral hacen que los virus de la influenza sean un reto formidable en las actividades de control. La influenza de tipo A tiene una gran variabilidad antigénica y produce casi todos los casos de influenza epidémica. La influenza de tipo B puede producir cambios antigénicos y a veces causa epidemias. La influenza de tipo C muestra una estabilidad antigénica y sólo produce enfermedad leve en individuos inmunodeficientes.

PROPIEDADES DE LOS ORTOMIXOVIRUS

Se conocen tres tipos inmunitarios de virus de la influenza, designados A, B y C. En los virus de la influenza del grupo de tipo A continuamente ocurren cambios antigénicos y también en menor grado en el grupo de tipo B, en tanto que el de tipo C al parecer tiene estabilidad antigénica. Asimismo, se conocen cepas del virus de la influenza A para aves acuáticas, pollos, patos, cerdos, caballos y focas. Algunas de las cepas aisladas de animales son antigénicamente similares a las cepas que circulan en la población humana.

Las siguientes descripciones se basan en el virus de la influenza de tipo A, el tipo mejor caracterizado (cuadro 39-1).

Estructura y composición

Los viriones de la influenza suelen ser esféricos y tienen un diámetro de 100 nm (80 a 120 nm), aproximadamente, aunque pueden manifestar una gran variación en su tamaño (fig. 39-1).

Los genomas de RNA monocatenario de polaridad negativa de los virus de la influenza A y B ocurren en ocho segmentos separados; los virus de la influenza C contienen siete segmentos de RNA y carecen de un gen de la neuraminidasa. Se conocen asignaciones de tamaños y de codificación de proteínas para todos los segmentos (cuadro 39-2). La mayor parte de los segmentos codifican una sola proteína. Se conoce la secuencia de nucleótidos completa de muchos virus de la influenza. Los primeros 12 a 13 nucleótidos en cada extremo de todo segmento genómico se conservan en la totalidad de los ocho segmentos de RNA; estas secuencias tienen importancia en la transcripción viral.

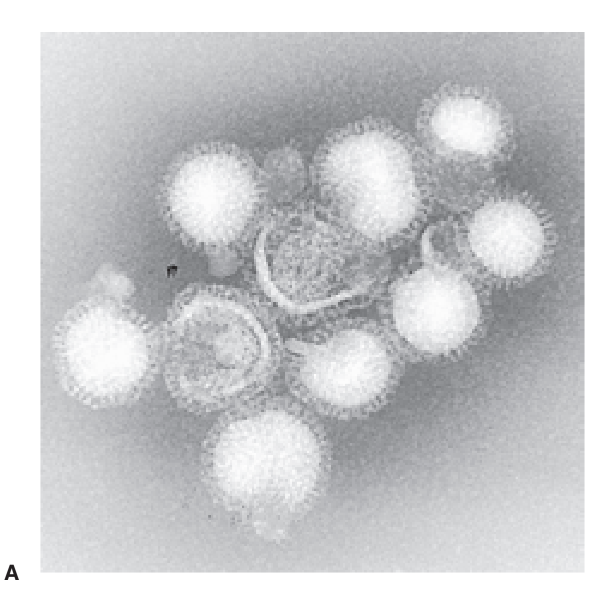
Los virus de la influenza contienen nueve proteínas estructurales diferentes. La nucleoproteína (NP) se asocia al RNA viral para formar una estructura de ribonucleoproteína (RNP) de 9 nm de diámetro que asume una configuración helicoidal y forma la nucleocápside viral. Tres proteínas de gran tamaño (PB1, PB2 y PA) se unen al RNP viral e intervienen en la transcripción y replicación del ácido ribonucleico. La proteína de la matriz (M_1) que forma una capa por debajo de la envoltura lipídica del virus es importante en la morfogénesis de la partícula y es un componente principal del virión (alrededor del 40% de la proteína viral).

Una envoltura lipídica derivada de la célula rodea a la partícula viral. Dos glucoproteínas codificadas por el virus, la hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA), se insertan en la envoltura y están expuestas como espigas de unos 10 nm de longitud en la superficie de la partícula. Estas dos glucoproteínas de la superficie son antígenos importantes que determinan la variación antigénica de los virus de la influenza y la inmunidad del hos-

CUADRO 39-1 Propiedades importantes de los ortomixovirus[a]

Virión: Esférico, pleomórfico, 80 a 120 nm de diámetro (nucleocápside helicoidal, 9 nm)
Composición: RNA (1%), proteína (73%), lípidos (20%), hidrato de carbono (6%)
Genoma: RNA monocatenario, segmentado (8 moléculas), de polaridad negativa, 13.6 kb de tamaño global
Proteínas: 9 proteínas estructurales, una no estructural
Envoltura: Contiene proteínas hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) virales
Replicación: Transcripción nuclear; 5′ términos de RNA celular incorporados en la cápside depurados como sensibilizadores; las partículas maduran mediante gemación a partir de la membrana plasmática
Partículas sobresalientes: El reensamble genético es frecuente entre los miembros del mismo género El virus de la influenza produce epidemias mundiales

[a]Descripción del virus de la influenza A, género *Influenzavirus A*.



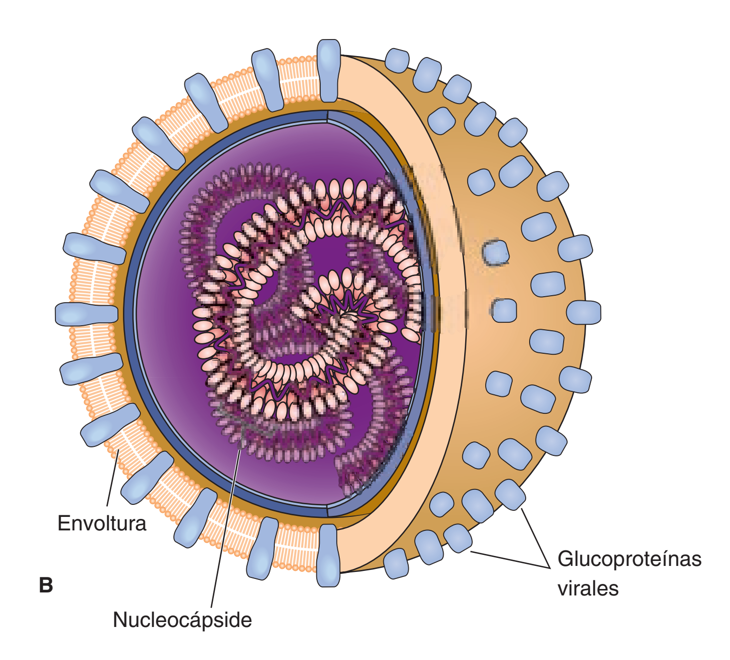


FIGURA 39-1 Virus de la influenza. **A:** Microfotografía electrónica del virus de la influenza A/Hong Kong/1/68 (H3N2). Obsérvense las formas pleomórficas y las proyecciones de glucoproteína que cubren las superficies de la partícula (315 000×). (Cortesía de FA Murphy y EL Palmer.) **B:** Vista esquemática del virus de la influenza. Las partículas del virus tienen genomas segmentados que constan de siete a ocho moléculas de RNA diferentes, cada una cubierta por proteínas de la cápside y formando nucleocápsides helicoidales. Las glucoproteínas virales (hemaglutinina y neuraminidasa) se proyectan como espiga a través de la envoltura lipídica. (Reproducida con autorización de Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ: *Prescott, Harley and Klein´s Microbiology,* 7th ed. McGraw Hill, 2008.)

CUADRO 39-2 Asignaciones de codificación de los segmentos de RNA del virus de la influenza de tipo A[a]

Segmento del genoma		Polipéptido codificado			
Número[b]	Tamaño (número de nucleótidos)	Designación	Peso molecular previsto[c]	Número aproximado de moléculas por virión	Función
1	2 341	PB2	85 700	30 a 60	Componentes de transcriptasa de RNA
2	2 341	PB1	86 500		
3	2 233	PA	84 200		
4	1 778	HA	61 500	500	Hemaglutinina; trímero; glucoproteína de la envoltura; media la inserción del virus en la célula; activado por desdoblamiento; actividad de fusión a un pH ácido
5	1 565	NP	56 100	1 000	Relacionado con proteínas de RNA y de polimerasa; estructura helicoidal; nucleocápside
6	1 413	NA	50 000	100	Neuraminidasa; tetrámero; glucoproteínas de envoltura; enzimas
7	1 027	M_1	27 800	3 000	Proteína de la matriz; componente principal del virión; reviste el interior de la envoltura; interviene en el ensamble; interacciona con RNP y NS_2 del virus
		M_2	11 000	20 a 60	Proteína integral de la membrana; canal iónico; esencial para la pérdida de la envoltura del virus; de mRNA empalmado
8	890	NS_1	26 800	0	No estructural; gran abundancia; inhibe el empalme pre-mRNA; reduce la respuesta de interferón
		NS_2	14 200	130-200	Componente menor de viriones; exportación nuclear de RNP virales; de mRNA empalmado

[a]Adaptado con autorización de Lamb RA, Krug RM: Orthomyxoviridae: The viruses and their replication. En: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al [editors]. Lippincott-Raven, 1996.

[b]Los segmentos de RNA están numerados en orden de tamaño decreciente.

[c]Los pesos moleculares de las dos glucoproteínas, HA y NA, aparecen más grandes (alrededor de 76 000 y 56 000, respectivamente) debido al hidrato de carbono añadido.

pedador. La hemaglutinina representa alrededor de 25% de la proteína viral y la neuraminidasa casi 5%. La proteína del canal iónico de M_2 y la del NS_2 también están presentes en la envoltura pero sólo algunas copias por partícula.

Dado el carácter segmentado del genoma, cuando una célula se infecta simultáneamente con dos virus diferentes en un determinado tipo, mezclas de segmentos del gen progenitor pueden ensamblarse en viriones de la progenie. Este fenómeno, denominado **reensamble genético**, puede producir cambios súbitos en los antígenos de la superficie viral, una propiedad que explica las características epidemiológicas de la influenza y plantea importantes dificultades para el desarrollo de las vacunas.

Los virus de la influenza son relativamente resistentes *in vitro* y pueden almacenarse a una temperatura de 0 a 4°C durante semanas sin que pierdan su viabilidad. Los disolventes de lípidos, los desnaturalizantes de proteínas, el formaldehído y la radiación destruyen la infecciosidad. Tanto la infecciosidad como la hemaglutinación son más resistentes a la inactivación a un pH alcalino que a un pH ácido.

Clasificación y nomenclatura

El género *Influenzavirus A* contiene cepas humanas y animales del virus de la influenza de tipo A; *Influenzavirus B* contiene cepas humanas de tipo B, e *Influenzavirus C* contiene virus de la influenza de tipo C de seres humanos y de cerdos.

Las diferencias antigénicas manifestadas por dos de las proteínas estructurales internas, las proteínas de la nucleocápside (NP) y la matriz (M) se utilizan para clasificar los virus de la influenza en tipos A, B y C. Estas proteínas no poseen reactividad cruzada entre los tres tipos. Las variaciones antigénicas en las glucoproteínas de superficie, HA y NA, se utilizan para subtipificar los virus. Sólo el tipo A tiene subtipos designados.

El sistema de nomenclatura estándar para las cepas del virus de la influenza comprende la siguiente información: tipo, hospedador de origen, origen geográfico, número de cepas y año de aislamiento. Las descripciones antigénicas de HA y NA se muestran entre paréntesis para el de tipo A. No se indica el hospedador de origen para las cepas humanas, por ejemplo, A/Hong Kong/03/68(H3N2), pero se indica para otros, por ejemplo, A/cerdos/Iowa/15/30(H1N1).

Hasta el momento, se han aislado 15 subtipos de HA (H1 a H15) y nueve subtipos de NA (N1 a N9), en muchas diferentes combinaciones, de aves, animales o seres humanos. Se han aislado en seres humanos cuatro subtipos de HA (H1 a H3 y H5) y dos de NA (N1, N2).

Estructura y función de la hemaglutinina

La proteína HA del virus de la influenza fija partículas virales a las células susceptibles y es el principal antígeno contra el cual se dirigen los anticuerpos neutralizantes (protectores). La variabilidad de la HA es la causa principal de la evolución continuada de nuevas cepas y epidemias de influenza subsiguientes. La hemaglutinina deriva su nombre de su capacidad para aglutinar eritrocitos en determinadas circunstancias.

La secuencia de aminoácido para HA puede calcularse a partir de la secuencia del gen de HA y la estructura tridimensional de la proteína se ha revelado mediante cristalografía de rayos X, de forma que es posible correlacionar las funciones de la molécula de HA con su estructura.

La secuencia primaria de la HA contiene 566 aminoácidos (fig. 39-2A). Una secuencia de señal corta en el amino terminal inserta el polipéptido en el retículo endoplásmico; después, la señal es retirada. La proteína HA es desdoblada en dos subunidades, HA1 y HA2, que permanecen muy vinculadas por un enlace de disulfuro. Un estiramiento hidrófobo cerca del carboxilo terminal de HA2 ancla la molécula de HA en la membrana y una pequeña cola hidrófila se extiende hacia el citoplasma. En varios sitios se añaden residuos de oligosacáridos.

La molécula de HA se pliega en una estructura compleja (fig. 39-2B). Cada dímero de HA1 y HA2 ligado forma un tronco alargado recubierto por un glóbulo de gran tamaño. La base del tronco lo ancla en la membrana. Cinco puntos antigénicos en la molécula de HA muestran mutaciones considerables. Estos puntos ocurren en regiones expuestas de la superficie de la estructura y al parecer no son esenciales para la estabilidad de la molécula e intervienen en la neutralización viral. Otras regiones de la molécula de HA están conservadas en todas las cepas, lo cual probablemente se debe a que son necesarias para que la molécula retenga su estructura y función.

La espiga de HA en la partícula viral es un trímero, que consta de tres dímeros de HA1 y HA2 entrelazados (fig. 39-2C). La trimerización imparte más estabilidad a la espiga que la que podría lograrse con un monómero. El lugar de unión del receptor celular (lugar de adherencia del virus) es un saco ubicado en la parte superior de cada glóbulo grande. El saco es inaccesible al anticuerpo.

El desdoblamiento que separa HA1 y HA2 es necesario para que la partícula viral sea infecciosa y es mediada por proteasas celulares. Los virus de la influenza normalmente se mantienen circunscritos a las vías respiratorias debido a que las enzimas de proteasa que desdoblan HA son frecuentes sólo en esos lugares. Se han observado ejemplos de virus más virulentos que se han adaptado a utilizar una enzima más ubicua, como la plasmina, para desdoblar HA y favorecer la infección generalizada de las células. El aminoterminal de HA2, generado por el fenómeno de desdoblamiento, es necesario para que la envoltura viral se fusione con la membrana celular, un paso esencial en el proceso de la infección viral. El pH bajo desencadena un cambio en la configuración que activa la actividad de fusión.

Estructura y función de la neuraminidasa

La antigenicidad de la neuraminidasa (NA), la otra glucoproteína presente en la superficie de las partículas del virus de la influenza, también es importante para determinar el subtipo de cepas del virus de la influenza.

La espiga en la partícula viral es un tetrámero, que consta de cuatro monómeros idénticos (fig. 39-2D). Un tronco delgado está coronado con una cabeza de forma de caja. Hay un punto catalítico para la NA en la parte superior de cada cabeza, de manera que cada espiga de neuraminidasa contiene cuatro lugares activos.

La NA funciona al final del ciclo de replicación viral. Es una enzima sialidasa que retira ácido siálico de los glucoconjugados. Facilita la liberación de partículas virales de la superficie de células infectadas durante el proceso de gemación y ayuda a evitar la autoagregación de viriones al retirar los residuos de ácido siálico de las glucoproteínas virales. Es posible que la neuraminidasa ayude al virus a abrirse camino a través de la capa de mucina en las vías respiratorias para llegar a las dianas celulares epiteliales.

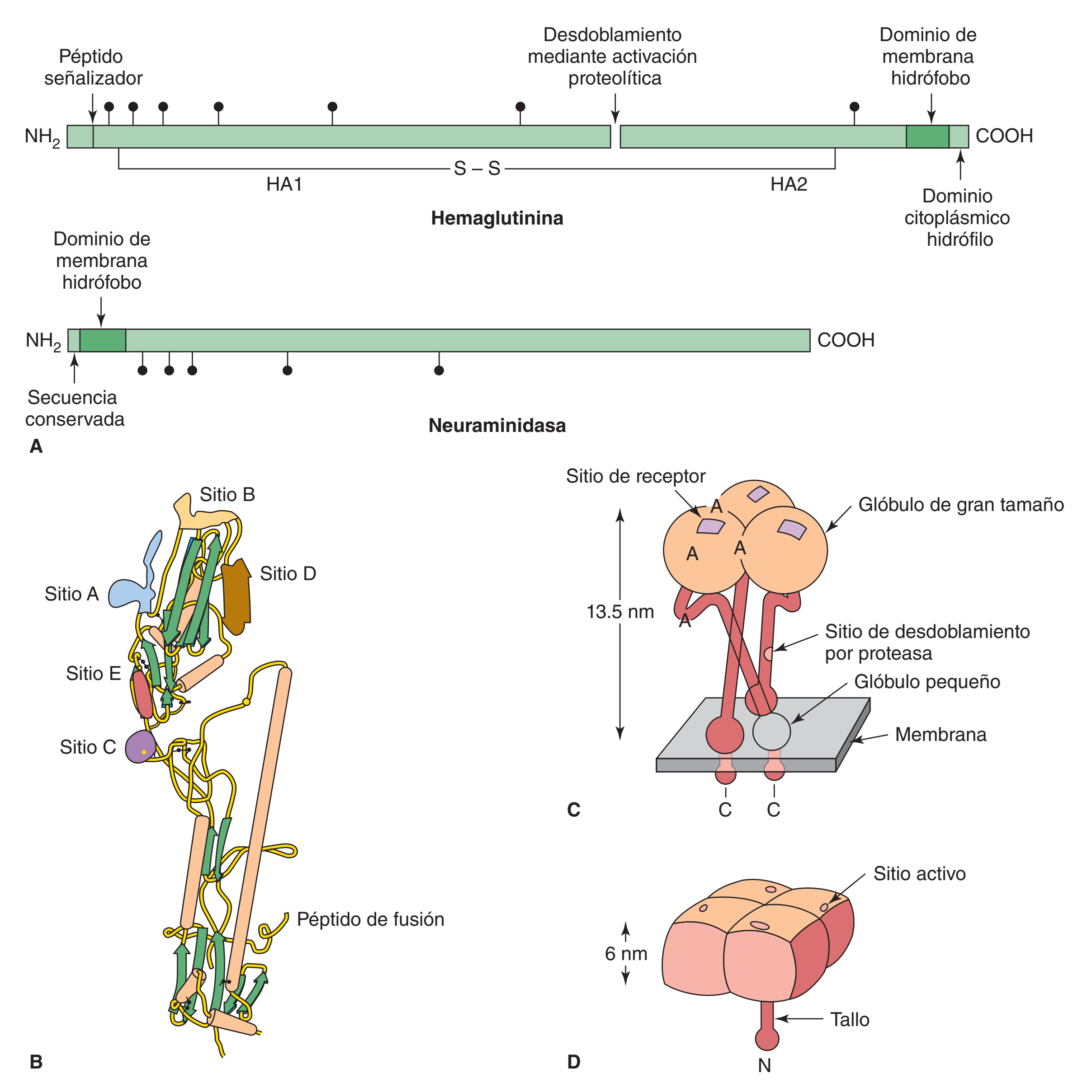


FIGURA 39-2 Glucoproteínas de superficie hemaglutinina y neuraminidasa del virus de la influenza. **A:** Estructuras primarias de los polipéptidos de hemaglutinina y neuraminidasa. El desdoblamiento de HA en HA1 y HA2 es necesario para que el virus sea infeccioso. Los tipos HA1 y HA2 se mantienen unidos mediante un enlace de disulfuro (S-S). No ocurre desdoblamiento postraduccional con la neuraminidasa. Se muestran los puntos de inserción del hidrato de carbono (⫰). Los aminoácidos hidrófobos que anclan las proteínas en la membrana viral están situados cerca del carboxilo terminal de la HA y el amino terminal de la neuraminidasa. **B:** Plegamiento de los polipéptidos de HA1 y HA2 en un monómero de hemaglutinina. Cinco lugares antigénicos importantes (lugares A-E) que experimentan cambios que muestran como zonas sombreadas. El amino terminal de HA2 proporciona actividad para la fusión (péptido de fusión). La partícula de fusión está sepultada en la molécula hasta que es expuesta por un cambio en la configuración desencadenado por un pH bajo. **C:** Estructura del trímero de HA como se observa en una partícula viral o la superficie de las células infectadas. Se muestran algunas de las zonas que intervienen en la variación antigénica (A). Los residuos de carboxilo terminal (C) se proyectan a través de la membrana. **D:** Estructura del tetrámero de neuraminidasa. Cada molécula de NA tiene un lugar activo en su superficie superior. La región amino terminal (N) de los polipéptidos ancla el complejo en la membrana. (Dibujada de nuevo con autorización de [**A, B]**¸ Murphy BR, Webster RG: Influenza viruses, página 1179, y **[C, D]** Kingsbury DW: Orthomyxo- and paramyxoviruses and their replication, página 1157. En: *Virology*, Fields BN et al [editors]. Raven Press, 1985.)

Deriva antigénica y variación antigénica

Los virus de la influenza son notables por los cambios antigénicos frecuentes que ocurren en la HA y la NA. Las variantes antigénicas del virus de la influenza tienen una ventaja selectiva sobre el virus progenitor en la presencia de anticuerpo dirigido contra la cepa original. Este fenómeno es la causa de las características epidemiológicas singulares de la influenza. Otros microorganismos que afectan al sistema respiratorio no manifiestan una variación antigénica importante.

Los dos antígenos de superficie de la influenza experimentan variación antigénica independiente entre sí. Los cambios antigénicos menores se denominan **deriva antigénica**; los cambios antigénicos mayores en la HA o la NA, denominados **variación antigénica**, dan por resultado la aparición de un nuevo subtipo (fig. 39-3). La variación antigénica muy probablemente produce epidemia.

La deriva antigénica se debe a la acumulación de mutaciones puntuales en el gen que dan por resultado cambios de aminoácidos en la proteína. Los cambios de secuencia pueden modificar los lugares antigénicos en la molécula de tal manera que un virión puede evadir el reconocimiento por el sistema inmunitario del hospedador. El sistema inmunitario no causa la variación antigénica, sino más bien funciona como una fuerza de selección que permite la expansión de nuevas variantes antigénicas. Una variante debe sufrir dos o más mutaciones antes que surja una nueva cepa de importancia epidemiológica.

La variación antigénica refleja cambios drásticos en la secuencia de una proteína de superficie viral, cambios demasiado extremos para atribuirse a la mutación. Los genomas segmentados de los virus de la influenza se reensamblan con rapidez en células doblemente infectadas. El mecanismo de la variación es el reensamble genético entre los virus de la influenza humana y aviar. Los virus de la influenza B y C no muestran variación antigénica pues existen pocos virus relacionados en los animales.

Replicación del virus de la influenza

En la figura 39-4 se resume el ciclo de replicación del virus de la influenza. Los virus de la influenza son virus de RNA inusuales entre los virus de RNA no oncógenos, pues toda su transcripción y replicación de RNA ocurre en el núcleo de las células infectadas. El ciclo de multiplicación viral procede con rapidez. Hay una inactivación de la síntesis de la proteína de la célula del hospedador unas 3 h después de la infección, lo que permite la traducción selectiva de los mRNA virales. Se producen nuevos virus descendientes al cabo de 8 a 10 horas.

A. Adherencia, penetración y pérdida de la envoltura viral

El virus se adhiere al ácido siálico de la superficie celular a través del receptor ubicado en la parte superior del glóbulo grande de la hemaglutinina. Las partículas del virus luego son interiorizadas en endosomas mediante un proceso denominado endocitosis mediada por receptor. El siguiente paso consiste en la fusión entre la envoltura viral y la membrana celular, que desencadena la pérdida de la envoltura. El pH bajo en el endosoma es necesario para la fusión de la membrana mediada por el virus que libera RNP virales hacia el citosol. El pH ácido produce un cambio de configuración en la estructura de HA que hace que el "péptido de fusión" de HA2 quede en contacto correcto con la membrana. La proteína del canal iónico de M_2 presente en el virión permite la entrada de iones del endosoma hacia la partícula viral, lo que desencadena el cambio de configuración en la hemaglutinina. Las nucleocápsides virales son liberadas luego hacia el citoplasma de las células.

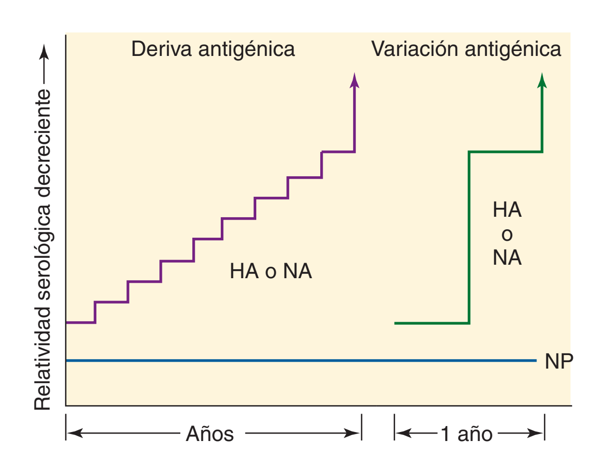


FIGURA 39-3 La deriva y la variación antigénicas participan en los cambios antigénicos de las dos glucoproteínas de superficie (HA y NA) del virus de la influenza. La deriva antigénica es un cambio gradual de la antigenicidad debido a las mutaciones de punto que afectan los sitios antigénicos principales de la glucoproteína. La variación antigénica es un cambio brusco debido al reensamble genético con una cepa no relacionada. Los cambios en la HA y la NA ocurren de manera independiente. Las proteínas internas del virus, como la nucleoproteína (NP), no experimentan cambios antigénicos.

B. Transcripción y traducción

Los mecanismos de transcripción utilizados por los ortomixovirus son muy diferentes de los de otros virus de RNA por cuanto intervienen de manera más íntima las funciones celulares. La transcripción viral ocurre en el núcleo. Los mRNA son producidos a partir de las nucleocápsides virales. La polimerasa codificada por el virus, que consta de un complejo de las tres proteínas P, es la que interviene principalmente en la transcripción. Su acción debe ser preparada por los terminales incorporados en la cápside y 5′ metilados que son depurados de los transcriptos celulares recién sintetizados por la polimerasa II de RNA celular. Esto explica por qué la replicación del virus de la influenza es inhibida por la dactinomicina y la amanitina α, que bloquean la transcripción celular, en tanto que otros virus de RNA no son afectados, pues no utilizan transcriptos celulares en la síntesis de RNA viral. Seis de los segmentos del genoma generan mRNA monocistrónicos que son traducidos en el citoplasma en seis proteínas virales. Los otros dos transcriptos experimentan empalme y cada uno genera dos mRNA que son traducidos en diferentes marcos de lectura. En las primeras etapas después de la infección, las proteínas NS_1 y NP son sintetizadas de preferencia. En etapas subsiguientes, las proteínas estructurales son sintetizadas con altas tasas. Las dos glucoproteínas, HA y NA, son modificadas utilizando la vía secretora.

La proteína NS_1 no estructural del virus de la influenza tiene una función postranscripcional en la regulación de la expresión del gen viral y celular. La proteína NS_1 se une a secuencias poli(A), inhibe el empalme previo al mRNA e inhibe la exportación nuclear de los mRNA empalmados, con lo que asegura una reserva de moléculas celulares donadores que proporcionan los cebadores incorporados en la cápside que son necesarios para la síntesis de mRNA viral. La proteína NS_2 interacciona con la proteína M_1 e interviene en la exportación nuclear de los RNP virales.

C. Replicación del RNA viral

La replicación del genoma viral se logra por las mismas proteínas de polimerasa codificadas por el virus que intervienen en la transcripción. Los mecanismos que regulan las funciones alternativas de transcripción y replicación de las mismas proteínas están relacionados con la abundancia de una o más de las proteínas de la nucleocápside viral.

Al igual que con todos los demás virus de tiras negativas, las plantillas para la síntesis de RNA viral se mantienen recubiertas con nucleoproteínas. Los únicos RNA completamente libres son

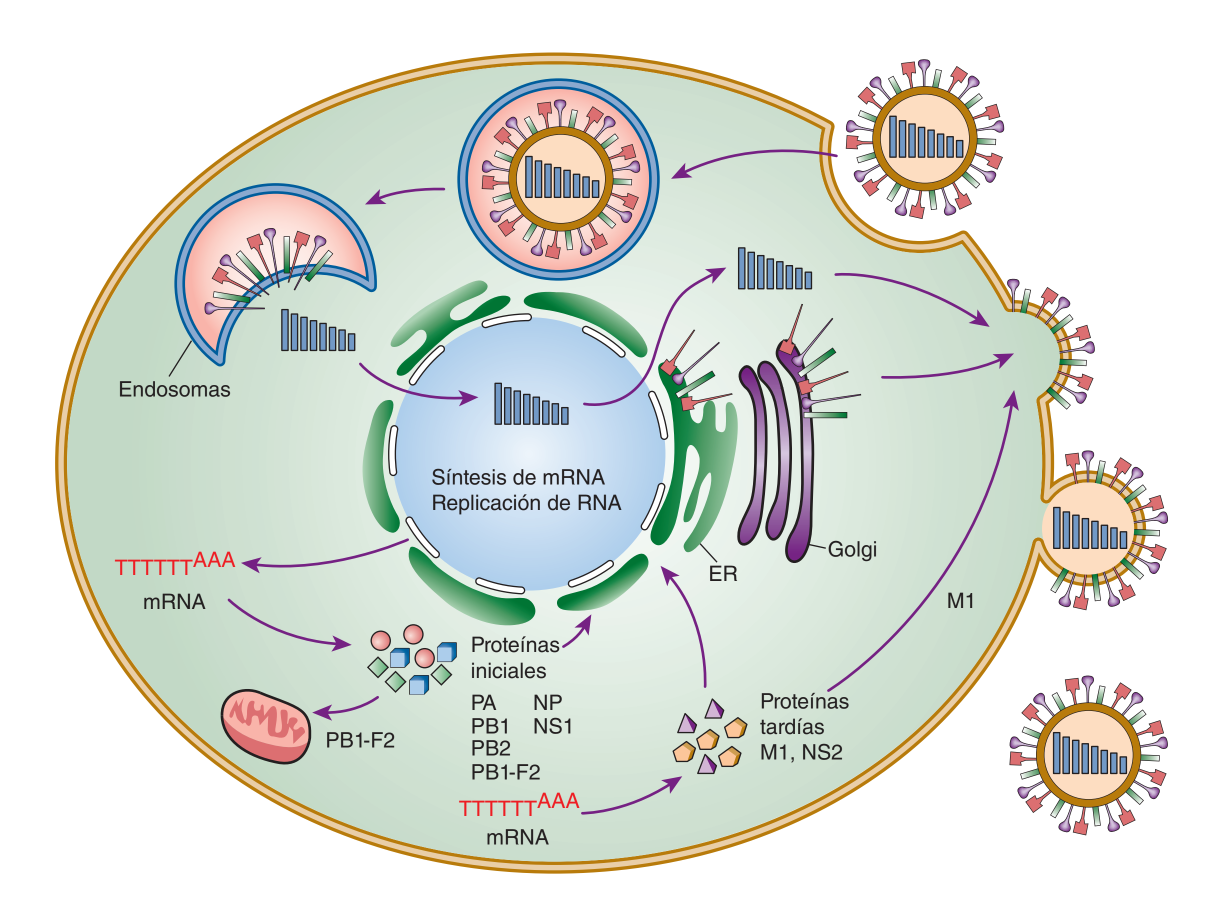


FIGURA 39-4 Diagrama del ciclo vital del virus de la influenza. Después de la endocitosis mediada por receptor, los complejos de ribonucleoproteína viral son liberados hacia el citoplasma y transportados al núcleo, donde ocurre la replicación y la transcripción. Los RNA mensajeros son exportados al citoplasma para su traducción. Las proteínas virales iniciales que son necesarias para la replicación y la transcripción son transportadas de nuevo al núcleo. El ensamble y la gemación de los viriones de descendencia ocurren en la membrana plasmática. (Reproducida con autorización de Neumann G, Noda T, Kawaoka Y: Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. Nature 2009; 459:931.)

los RNA mensajeros. El primer paso en la replicación del genoma es la producción de copias de cada segmento de tira positiva. Estas copias antigenoma difieren de las mRNA en las dos terminales: los extremos 5′ no están incorporados en la cápside y los extremos 3′ no están truncados ni poliadenilados. Estas copias hacen las veces de plantillas para la síntesis de copias facsímiles de RNA genómicos.

Puesto que hay secuencias comunes en los dos extremos de todos los segmentos de RNA viral, pueden reconocerse eficientemente por el aparato de síntesis de ácido ribonucleico. El entrelazado de los segmentos de genoma derivados de diferentes progenitores en las células coinfectadas posiblemente es la causa de la gran frecuencia de reensamble genético característico de los virus de la influenza dentro de un género. Se han observado frecuencias de reensamble de hasta 40 por ciento.

D. Maduración

El virus madura por gemación desde la superficie de la célula. Los componentes virales individuales llegan al lugar de gemación por diferentes caminos. Las nucleocápsides se ensamblan en el núcleo y se desplazan afuera hacia la superficie celular. Las glucoproteínas, HA y NA, son sintetizadas en el retículo endoplásmico; son modificadas y ensambladas en trímeros y tetrámeros respectivamente; y se insertan en la membrana plasmática. La proteína M_1 hace las veces de un puente que vincula la nucleocápside a los extremos citoplásmicos de las glucoproteínas. Los viriones descendientes salen de la célula por gemación. Durante esta serie de fenómenos, la HA es desdoblada en HA1 y HA2 si la célula hospedadora posee la enzima proteolítica apropiada. La NA retira los ácidos siálicos terminales de las glucoproteínas de la superficie celular y viral, facilitando la liberación de partículas virales de la célula y evitando su agregación.

Muchas de las partículas no son infecciosas. Las partículas a veces no logran incorporar en la cápside el complemento completo de segmentos de genoma; a menudo uno de los segmentos grandes de RNA falta. Estas partículas no infecciosas pueden causar hemaglutinación y pueden interferir en la replicación del virus intacto.

Los sistemas de genética inversa que permiten la generación de virus de la influenza infecciosos de cDNA clonados de segmentos de RNA viral están disponibles y permiten los estudios de mutagénesis y funcionales.

INFECCIONES POR EL VIRUS DE LA INFLUENZA EN SERES HUMANOS

En el cuadro 39-3 se muestra una comparación del virus de la influenza A con otros virus que infectan el sistema respiratorio humano. Aquí se analizará el virus de la influenza.

CUADRO 39-3 Comparación de virus que infectan el sistema respiratorio humano

Virus	Enfermedad	Número de serotipos	Inmunidad de por vida contra la enfermedad	Vacuna disponible	Latencia viral
Virus de RNA					
Virus de la influenza A	Influenza	Múltiples	No	+	–
Virus de la parainfluenza	Laringotraqueítis	Múltiples	No	–	–
Virus sincitial respiratorio	Bronquiolitis	Uno	No	–	–
Virus de la rubéola	Rubéola	Uno	Sí	+	–
Virus del sarampión	Sarampión	Uno	Sí	+	–
Virus de la parotiditis	Parotiditis, meningitis	Uno	Sí	+	–
Rinovirus	Resfriado común	Múltiples	No	–	–
Coronavirus	Resfriado común	Múltiples	No	–	–
Virus Coxsackie	Herpangina, pleurodinia	Múltiples	No	–	–
Virus de DNA					
Virus del herpes simple de tipo 1	Gingivoestomatitis	Uno	No	–	+
Virus de Epstein-Barr	Mononucleosis infecciosa	Uno	Sí	–	+
Virus de varicela-zóster	Varicela, herpes	Uno	Sí[a]	+	+
Adenovirus	Faringitis, neumonía	Múltiples	No	–	+

[a]Inmunidad de por vida contra las reinfecciones por varicela pero no a la reactivación de herpes zóster.

Patogenia y anatomía patológica

El virus de la influenza se disemina entre las personas por las gotitas de secreciones respiratorias presentes en el aire o por el contacto con las manos o superficies contaminadas. Algunas células del epitelio respiratorio se infectan si las partículas virales depositadas evitan su eliminación por el reflejo tusígeno y evaden la neutralización por los anticuerpos IgA específicos preexistentes o la inactivación por inhibidores inespecíficos presentes en las secreciones de la mucosa. Pronto se producen viriones descendientes y se diseminan a las células adyacentes donde se repite el ciclo de replicación. La NA viral reduce la viscosidad de la película de moco en el sistema respiratorio, dejando desnudos los receptores de la superficie celular y favoreciendo la diseminación del líquido que contiene virus a las porciones inferiores del sistema respiratorio. En breve, muchas células de las vías respiratorias son infectadas y tarde o temprano mueren.

El periodo de incubación desde la exposición al virus y el inicio de la enfermedad varían de un día a cuatro días, lo que depende del tamaño de la dosis viral y el estado inmunitario del hospedador. La eliminación del virus comienza el día previo al inicio de los síntomas, alcanza su máximo en un lapso de 24 horas, se mantiene elevada durante uno a dos días y luego disminuye los siguientes cinco días. El virus infeccioso muy pocas veces se aísla de la sangre.

El interferón es detectable en las secreciones respiratorias aproximadamente un día después que comienza la eliminación del virus. Los virus de la influenza son sensibles a los efectos antivirales del interferón y se cree que la respuesta de éste contribuye al restablecimiento del hospedador tras la infección. Durante otras una a dos semanas no se pueden detectar anticuerpos específicos y respuestas mediadas por las células.

Las infecciones por influenza causan destrucción celular y descamación de la mucosa superficial del sistema respiratorio pero no modifican la capa basal del epitelio. La recuperación completa de la lesión celular probablemente tarda un mes. La lesión viral del epitelio del sistema respiratorio reduce su resistencia a los invasores bacterianos secundarios, sobre todo estafilococos, estreptococos y *Haemophilus influenzae*.

El edema y las infiltraciones mononucleares en respuesta a la muerte celular y la descamación debida a la replicación viral probablemente contribuyen a los síntomas locales. Los síntomas generales sobresalientes relacionados con la influenza probablemente reflejan la producción de citocinas.

Manifestaciones clínicas

La influenza ataca principalmente a las vías respiratorias altas. Conlleva un riesgo importante para los ancianos, los pacientes muy pequeños y las personas con trastornos médicos subyacentes como problemas pulmonares, renales o cardiacos, diabetes o cáncer.

A. Influenza no complicada

Los síntomas de la influenza característica suelen aparecer en forma brusca y comprenden escalofríos, cefalea y tos seca, seguida casi inmediatamente de fiebre alta, mialgias generalizadas, ataque al estado general y anorexia. La fiebre por lo general dura de tres a cinco días, lo mismo que los síntomas generales. Los síntomas respiratorios suelen persistir durante otros tres a cuatro días. La tos y la debilidad pueden persistir por dos a cuatro semanas después que ceden los síntomas principales. Pueden presentarse infecciones leves o asintomáticas. Estos síntomas pueden ser desencadenados por cualquier cepa de virus de la influenza A o B. En cambio, la influenza C pocas veces produce el síndrome de influenza, y más bien es causa de resfriados comunes. La coriza y la tos pueden persistir por varias semanas.

Los síntomas clínicos de la influenza en los niños son similares a los observados en los adultos, aunque los niños pueden tener fiebre más alta y una mayor frecuencia de manifestaciones digestivas como vómito. Pueden presentarse convulsiones febriles. Los virus de la influenza A son una causa importante de laringotraqueobronquitis en los niños de menos de 1 año de

edad, la cual puede ser grave. Por último, puede presentarse otitis media.

Cuando la influenza aparece en forma epidémica, las manifestaciones clínicas son tan uniformes que es posible diagnosticar la enfermedad. Los casos esporádicos no se pueden diagnosticar basándose en las manifestaciones clínicas, ya que éstas pueden no distinguirse de las causadas por otros microorganismos patógenos del sistema respiratorio. Sin embargo, estos otros microorganismos pocas veces producen neumonía viral grave, que es una complicación de la infección por el virus de la influenza A.

B. Neumonía

Las complicaciones graves suelen presentarse sólo en los ancianos y pacientes debilitados, sobre todo aquellos con enfermedades crónicas subyacentes. El embarazo al parecer es un factor de riesgo para las complicaciones pulmonares letales en algunas epidemias. La repercusión letal de una epidemia de influenza se refleja en las muertes excesivas a causa de neumonía y enfermedades cardiopulmonares.

La neumonía que complica las infecciones por influenza puede ser viral, bacteriana secundaria o una combinación de las dos. El incremento de la secreción de moco facilita el transporte de los microorganismos hacia la porción baja del sistema respiratorio. La influenza aumenta la susceptibilidad de los pacientes a las superinfecciones bacterianas. Esto se atribuye a la pérdida de la depuración por los cilios, la disfunción de las células fagocíticas y la generación de un medio de multiplicación bacteriana enriquecido por el exudado alveolar. Las bacterias patógenas más frecuentes son *Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae* y *H. influenzae*.

La neumonía viral y bacteriana combinada tiene una frecuencia aproximadamente tres veces mayor que la neumonía por influenza primaria. Se ha comunicado que la infección concomitante por *S. aureus* conlleva una tasa de mortalidad de hasta 42%. Una explicación molecular de un efecto sinérgico entre los virus y las bacterias puede ser que algunas cepas de *S. aureus* secretan una proteasa capaz de desdoblar la HA de la influenza y de esta manera permitir la producción de cantidades mucho más altas de virus infecciosos en los pulmones.

C. Síndrome de Reye

El síndrome de Reye es una encefalopatía aguda de niños y adolescentes, por lo general de entre 2 y 16 años de edad. La tasa de mortalidad es alta (10 a 40%). Se desconoce la causa de este síndrome, pero es una complicación infrecuente reconocida de la influenza B, la influenza A y de la infección por herpesvirus de varicela-zóster. Existe una posible relación entre el uso de salicilatos y la aparición subsiguiente del síndrome de Reye. La frecuencia del síndrome ha disminuido conforme se ha reducido el empleo de salicilatos en los niños con síntomas seudogripales.

Inmunidad

La inmunidad contra la influenza es duradera y específica de subtipos. Los anticuerpos contra HA y NA son importantes en la inmunidad contra la influenza, en tanto que los anticuerpos contra las otras proteínas codificadas por virus no son protectores. La resistencia al inicio de la infección está relacionada con el anticuerpo contra la HA, en tanto que la disminución de la gravedad de la enfermedad y de la capacidad para transmitir el virus a los contactos guarda relación con el anticuerpo dirigido contra la neuraminidasa. Los anticuerpos contra la ribonucleoproteína son específicos de tipo y son útiles para tipificar cepas virales (como la influenza A o B). La protección se correlaciona con los anticuerpos séricos y los anticuerpos IgA presentes en las secreciones nasales. El anticuerpo secretor local probablemente es importante para prevenir la infección. Los anticuerpos séricos persisten por muchos meses a años, en tanto que los anticuerpos secretores tienen una duración más breve (por lo general sólo varios meses). El anticuerpo también modifica la evolución de la enfermedad. Una persona con títulos bajos de anticuerpo puede infectarse pero experimentará una forma leve de la enfermedad. La inmunidad puede ser parcial, ya que puede ocurrir reinfección con el mismo virus.

Los tres tipos de virus de la influenza no tienen una relación antigénica y por tanto no inducen a una protección cruzada. Cuando un tipo de virus experimenta una deriva antigénica, una persona con anticuerpo preexistente a la cepa original puede sufrir sólo infección leve con la nueva cepa. Las infecciones subsiguientes a las inmunizaciones refuerzan la respuesta de anticuerpo al primer subtipo de influenza experimentado años antes, un fenómeno denominado “pecado antigénico original”.

Se considera que la principal función de las respuestas inmunitarias medidas por células en la influenza es el despeje de una infección establecida; los linfocitos T citotóxicos producen lisis de las células infectadas. La respuesta de linfocito T citotóxico es de tipo de reacción cruzada (puede producir lisis de células infectadas con cualquier subtipo de virus) y al parecer está dirigido contra las dos proteínas internas (NP, M) y las glucoproteínas de superficie.

Diagnóstico de laboratorio

Las manifestaciones clínicas de las infecciones respiratorias por virus pueden producirlas muchos virus diferentes. En consecuencia, el diagnóstico de la influenza se basa en la identificación de los antígenos virales o del ácido nucleico viral presente en los especímenes, el aislamiento del virus o la demostración de una respuesta inmunitaria específica por el paciente. Los lavados nasales, los borborigmos y los frotis de exudado faríngeo son las mejores muestras para los análisis diagnósticos y se deben obtener en los primeros tres días después que comienzan los síntomas.

A. Reacción en cadena de la polimerasa

Para el diagnóstico de la influenza se prefieren las pruebas rápidas basadas en la detección de RNA de la influenza en especímenes clínicos utilizando la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR, *reverse transcription polymerase chain reaction*). La RT-PCR es rápida (<1 día), sensible y específica. Sin embargo, en la actualidad no se realiza en todos los centros de salud.

B. Aislamiento e identificación del virus

La muestra que se analizará para el aislamiento del virus se debe mantener a una temperatura de 4°C a la inoculación en el cultivo celular, ya que el congelamiento y el deshielo reducen la capacidad para aislar el virus. Sin embargo, si el tiempo de almacenamiento superará los cinco días, la muestra debe congelarse a una temperatura de −70°C.

Los procedimientos de cultivo viral tardan tres a 10 días. Por lo regular los huevos embrionados y las células renales de simio primario han sido los métodos de aislamiento de elección para los virus de la influenza, aunque se pueden utilizar algunos linajes celulares continuos. Los cultivos de células inoculadas se incuban en ausencia de suero, que puede contener factores inhibidores virales inespecíficos, y en presencia de tripsina, que desdobla y activa la HA de manera que el virus en replicación se diseminará por todo el cultivo.

Los cultivos de células pueden evaluarse para determinar la presencia del virus mediante hemadsorción tres a cinco días después de la inoculación, o el líquido del cultivo puede analizarse para detectar el virus después de cinco a siete días mediante hemaglutinación. Si los resultados son negativos, se hace un pase hacia los cultivos en fresco. Este paso puede ser necesario porque las cepas virales primarias a menudo son difíciles de cultivar y se multiplican con lentitud.

Las cepas virales pueden identificarse mediante inhibición de la hemaglutinación, un procedimiento que permite la determinación rápida del tipo y el subtipo de virus de la influenza. Para realizar esto, se deben utilizar sueros de referencia a las cepas que predominan en la actualidad. La hemaglutinación por la nueva cepa será inhibida por el antisuero al subtipo homólogo.

Para un diagnóstico rápido, los cultivos de células obtenidos mediante el método de centrifugación y cultivo se pueden inocular y teñir uno a cuatro días después con anticuerpos monoclonales contra los microorganismos respiratorios. Los cultivos virales rápidos también se pueden evaluar mediante RT-PCR para identificar un microorganismo cultivado.

Es posible identificar el antígeno viral directamente en células exfoliadas en aspirados nasales utilizando anticuerpos fluorescentes. Esta prueba es rápida (tarda sólo algunas horas) pero no es tan sensible como el aislamiento del virus, no proporciona detalles completos sobre la cepa viral y no genera una cepa que se pueda caracterizar. Se comercializan pruebas rápidas para la detección de antígeno de la influenza que tardan menos de 15 min. Sin embargo, estas pruebas tienen una sensibilidad y una especificidad variables.

C. Análisis serológico

Los anticuerpos contra varias proteínas virales (hemaglutinina, neuraminidasa, nucleoproteína y matriz) se producen durante la infección por el virus de la influenza. La respuesta inmunitaria contra la glucoproteína de HA se relaciona con la resistencia a la infección. Las pruebas serodiagnósticas sistemáticas que se utilizan están basadas en la inhibición de la hemaglutinación (HI, *hemaglutination inhibition*) y análisis de inmunosorbente ligado a enzimas (ELISA). Se necesitan sueros pares de fase aguda y de convalecencia, pues las personas normales por lo general tienen anticuerpos contra la influenza. Debe detectarse un incremento de cuatro tantos o más en los títulos para diagnosticar una infección por influenza. Los sueros humanos a menudo contienen inhibidores de mucoproteína inespecíficos que deben destruirse antes del análisis mediante inhibición de la hemaglutinación.

La prueba de inhibición de la hemaglutinación revela la cepa del virus que produce la infección sólo si se dispone del antígeno correcto. Las pruebas de neutralización son las más específicas y las que mejor pronostican la susceptibilidad a la infección pero tienen menor rendimiento y son más dilatadas de realizar que las demás pruebas. La prueba ELISA es más sensible que los otros análisis.

Pueden presentarse complicaciones al tratar de identificar la cepa del virus de la influenza infectante mediante la respuesta de anticuerpo del paciente pues a menudo ocurren respuestas anamnésicas.

Epidemiología

Los virus de la influenza se encuentran en todo el mundo y causan brotes epidémicos anuales de intensidad variable. Se calcula que las epidemias anuales de influenza estacional producen tres a cinco millones de casos de enfermedad grave y 250 000 a 500 000 fallecimientos en todo el mundo. La repercusión económica de los brotes de influenza A es importante a causa de la morbilidad inherente a las infecciones. Se han calculado costos económicos de 10 a 60 millones por millón de población en los países desarrollados, lo que depende de la magnitud de la epidemia.

La configuración epidemiológica entre los tres tipos de influenza varía mucho. La influenza C es menos significativa; causa enfermedad respiratoria leve y esporádica pero no influenza epidémica. La influenza B a veces produce epidemia, pero la influenza de tipo B puede propagarse por continentes y en todo el mundo en epidemias masivas llamadas pandemias.

La incidencia de la influenza alcanza su máximo durante el invierno. En Estados Unidos, las epidemias de influenza por lo general se presentan desde enero hasta abril (y de mayo a agosto en el hemisferio del sur). Debe existir una cadena interpersonal continua de transmisión para que se mantenga el microorganismo entre las epidemias. Se puede detectar alguna actividad viral en grandes centros de población durante cada año, lo que indica que el virus se mantiene endémico en la población y produce algunas infecciones asintomáticas o leves.

A. Cambio antigénico

Los brotes periódicos aparecen a causa de los cambios antigénicos en una o dos glucoproteínas de la superficie del virus. Cuando el número de personas susceptibles en una población alcanza una magnitud suficiente, la nueva cepa del virus produce una epidemia. El cambio puede ser gradual (de ahí el término "deriva antigénica"), debido a las mutaciones puntuales reflejadas en alteraciones en puntos antigénicos importantes en la glucoproteína (fig. 39-3), o drástico y brusco (de ahí el término "variación antigénica"), debido al reensamble genético durante la infección concomitante por una cepa no relacionada.

Los tres tipos de virus de la influenza muestran deriva antigénica. Sin embargo, sólo la influenza A experimenta una variación antigénica, probablemente porque los virus de tipos B y C están restringidos al ser humano, en tanto que los virus de la influenza A relacionados se encuentran en otros mamíferos y en aves. Estas cepas de animales contribuyen a la deriva antigénica por el reensamble genético de los genes de glucoproteína. Se ha aislado virus de la influenza A en muchas aves acuáticas, sobre todo patos; en aves domésticas, como pavos, pollos, gansos y patos; en cerdos y caballos, e incluso en focas y ballenas.

Los brotes epidémicos de influenza ocurren en andanadas, aunque no hay una periodicidad regular en la presentación de las epidemias. La experiencia en un determinado año reflejará la interacción entre la magnitud de la deriva antigénica del virus predominante y la inmunidad que se desvanece en la población.

El periodo entre los brotes epidémicos de influenza A tiende a ser de dos a tres años; el periodo interepidémico para el tipo B es más prolongado (tres a seis años). Cada 10 a 40 años, cuando aparece un nuevo subtipo de influenza A, sobreviene una pandemia. Esto ocurrió en 1918 (H1N1), en 1957 (H2N2) y 1968 (H3N2). El subtipo H1N1 resurgió en 1977, aunque no se concretó ninguna epidemia. Desde 1977, los virus de la influenza A (H1N1) y (H3N2) y los virus de la influenza B han estado en circulación global.

Un nuevo virus H1N1 de origen porcino apareció a principios de 2009 y alcanzó una propagación pandémica a mediados del año. Era un reensamble cuádruple que contenía genes de virus de cerdos norteamericanos y euroasiáticos, así como virus de la influenza aviar y humana. El virus fácilmente era transmisible entre las personas y la gravedad de la enfermedad, al menos al inicio, era equiparable a la de la influenza estacional.

Es necesaria la vigilancia de los brotes epidémicos de influenza para identificar la aparición inicial de nuevas cepas, con el propósito de preparar vacunas contra ellas antes que ocurra una epidemia. Esta vigilancia puede extenderse hacia poblaciones animales, sobre todo aves, cerdos y caballos. El aislamiento de un virus con una hemaglutinina alterada a finales de la primavera durante una miniepidemia señala una posible epidemia al siguiente invierno. Se ha observado que este signo premonitor, denominado "onda precursora", antecede a las epidemias de la influenza A y B.

B. Influenza aviar

Los análisis de secuencia de los virus de la influenza A aislados de muchos hospedadores en diferentes regiones del mundo respaldan la teoría de que todos los virus de la influenza en mamíferos se derivan del reservorio de influenza aviar. De los 15 subtipos de HA que se detectan en las aves, sólo algunos se han transmitido a mamíferos (H1, H2, H3 y H5 en seres humanos; H1 y H3 en cerdos; y H3 y H7 en caballos). La misma configuración es aplicable a la NA; se conocen nueve subtipos de NA en aves, sólo dos de los cuales se hallan en seres humanos (N1, N2). Los virus de la influenza no parecen experimentar cambio antigénico en las aves, tal vez por su breve duración de vida. Esto significa que los genes que produjeron pandemias de influenza previas en seres humanos todavía existen sin modificación en el reservorio de aves acuáticas.

La influenza aviar fluctúa desde las infecciones no evidentes hasta las infecciones muy letales en pollos y pavos. La mayor parte de las infecciones por influenza en los patos son avirulentas. Los virus de la influenza de los patos se multiplican en células que revisten el intestino y se eliminan en altas concentraciones en la materia fecal hacia el agua, donde se mantienen viables por días o semanas, sobre todo a temperaturas bajas. Es posible que la influenza aviar sea una infección transmitida en el agua, desplazándose de aves silvestres a domésticas y cerdos.

Hasta el momento todas las cepas de pandemias humanas se han reensamblado entre virus de la influenza aviar y humana. Las pruebas respaldan el modelo de que los cerdos hacen las veces de conductos mezcladores para los reensambles pues sus células contienen receptores reconocidos por virus humanos y aviares (fig. 39-5). La cepa pandémica de 2009 fue un nuevo reensamble que contenía genes virales de origen porcino, así como de virus de la influenza aviar y humana. Los niños de edad escolar son los vectores predominantes de la transmisión de la influenza. El hacinamiento en las escuelas favorece la transmisión de aerosoles del virus y los niños llevan el virus a su domicilio y lo transmiten a la familia.

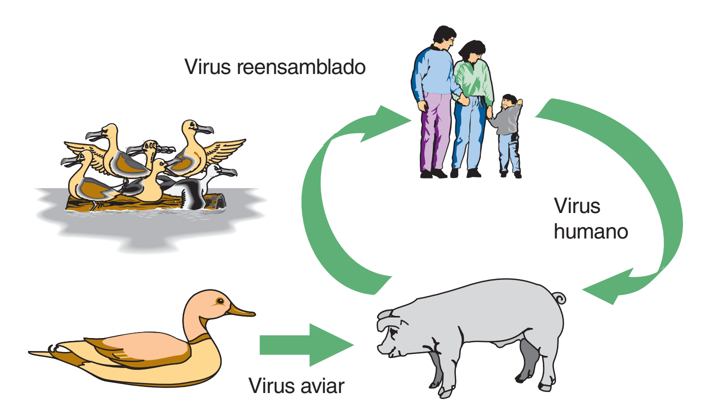


FIGURA 39-5 El cerdo hace las veces de un hospedador intermedio para la generación de los virus de la influenza humanos-aviares reensamblados con potencial pandémico. (Reproducida con autorización de Claas ECJ, Osterhaus ADME: New clues to the emergence of flu pandemics. Nat Med 1998;4:1122.)

En 1997 se presentó en Hong Kong la primera infección documentada de seres humanos por el virus de la influenza A aviar (H5N1). La fuente eran los pollos domésticos. Hacia 2006, la presencia geográfica de este virus de la influenza aviar H5N1 tan patógena, tanto en aves silvestres como domésticas, se ha expandido para afectar muchos países de Asia, África, Europa y el Medio Oriente. Los brotes epidémicos fueron los más extensos y los más graves registrados. De casi 425 casos humanos confirmados mediante análisis de laboratorio, para mayo de 2009 más de la mitad habían sido mortales. Hasta el momento, las cepas de casos humanos han contenido todos los segmentos de genes de RNA de virus aviares, lo que indica que, en estas infecciones, el virus aviar había saltado directamente de las aves al ser humano. Todas las pruebas hasta el momento indican que el contacto estrecho con las aves enfermas ha sido la fuente de infección por H5N1 humana. El problema es que, si se dan suficientes oportunidades, el virus de la influenza aviar H5N1 tan patógeno adquirirá la capacidad para propagarse con eficiencia y mantenerse en el ser humano, sea mediante reensamble o por mutación adaptativa. Esto produciría una pandemia de influenza devastadora.

C. Seroarqueología

El virus de la influenza humana fue aislado inicialmente en 1933 utilizando hurones. Los subtipos que circulaban antes de esa época se han deducido utilizando seroepidemiología retrospectiva. Esta técnica se basa en la detección de títulos de HI contra múltiples subtipos de HA del virus con sueros de muchos individuos en diferentes grupos de edad. El intervalo de la gama de anticuerpo de la influenza es estrecho en las primeras etapas de la vida, pero se vuelve progresivamente más amplio conforme avanzan los años. Los anticuerpos adquiridos por infecciones iniciales en la infancia reflejan antígenos dominantes de las cepas frecuentes. Las exposiciones ulteriores a los virus dan por resultado un ensanchamiento de la gama de anticuerpos hacia un mayor número de antígenos frecuentes de virus de la influenza.

Las exposiciones a una edad más avanzada a cepas antigénicamente relacionadas producen el reforzamiento progresivo del anticuerpo primario. Las concentraciones de anticuerpo más

elevadas en un grupo de edad específico, por tanto, reflejan antígenos dominantes del virus causante de las infecciones infantiles del grupo. Por consiguiente, se puede obtener una recapitulación serológica de infecciones pasadas con virus de la influenza de diferente constitución antigénica mediante el estudio de la distribución de los anticuerpos contra la influenza por edades en poblaciones normales.

Este enfoque indica que la epidemia de 1890 probablemente fue causada por un subtipo H2N8 y la epidemia de 1900 por un virus H3N8. La pandemia grave de 1918 a 1919 (gripe española) fue causada por la aparición brusca del subtipo H1N1, la influenza porcina. (Durante esta pandemia fallecieron más de 20 millones de personas, principalmente por neumonías bacterianas complicadas.) Las variaciones antigénicas subsiguientes se han documentado mediante aislamientos de los virus: H2N2 (gripe asiática) apareció en 1957 y fue remplazada en 1968 por el subtipo H3N2 (gripe de Hong Kong). La cepa H1N1 reapareció en 1977 (gripe rusa).

D. Reconstrucción del virus de la influenza de 1918

Las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa han generado fragmentos del virus de la influenza de especímenes de tejido de pulmón almacenados de víctimas de la epidemia de la gripe española de 1918. Se han determinado las secuencias de codificación completas de los ocho segmentos de RNA viral y las secuencias documentan que fue un virus H1N1 de la influenza A. Al parecer, el virus de 1918 no fue un reensamble, sino que se derivó completamente de una fuente aviar que se adaptó al ser humano. Utilizando genética inversa, se construyó un virus infeccioso que contenía todos los segmentos génicos del virus de la pandemia de 1918. En contraste con los virus ordinarios de la influenza, el virus de 1918 era muy patógeno, incluso podía matar rápidamente a ratones. Los genes de HA y polimerasas de 1918 al parecer son la causa de la gran virulencia.

Prevención y tratamiento con fármacos

El clorhidrato de amantadina y un análogo, la rimantadina, son inhibidores del canal iónico de M_2 que se utilizan por vía sistémica en el tratamiento y la prevención de la influenza de tipo A. Los inhibidores de NA zanamivir y oseltamivir fueron autorizados en 1999 para tratar tanto la influenza A como la influenza B. Para que tengan una eficacia máxima, los fármacos se deben administrar en etapas muy iniciales de la enfermedad. Los virus resistentes surgen con más frecuencia durante el tratamiento con inhibidores de N_2 que con inhibidores de NA y más a menudo en niños que en adultos. Durante la temporada de influenza en Estados Unidos a finales de 2005, 92% de las cepas de virus de la influenza A (H3N2) eran resistentes a inhibidores de M_2.

Prevención y control mediante vacunas

Las vacunas de virus inactivados constituyen el medio principal para prevenir la influenza en Estados Unidos. Sin embargo, determinadas características de los virus de la influenza dificultan en particular la prevención y el control de la enfermedad mediante inmunización. Las vacunas disponibles continuamente se vuelven obsoletas a medida que los virus experimentan deriva y variación antigénica. Los programas de vigilancia por los organismos gubernamentales y la Organización Mundial de la Salud constantemente vigilan subtipos de influenza que circulan alrededor del mundo para detectar con prontitud la aparición y la propagación de las nuevas cepas.

Hay otros problemas que merecen mención. Aunque la protección puede alcanzar 70 a 100% en adultos sanos, la frecuencia de protección es más baja (30 a 60%) en los ancianos y en los niños pequeños. Las vacunas virales inactivadas por lo general no generan respuestas satisfactorias de IgA local o respuestas inmunitarias mediadas por células. La respuesta inmunitaria es influida por el hecho de que la persona está “sensibilizada” al haber tenido una experiencia antigénica previa con un virus de la influenza A del mismo subtipo.

A. Preparación de vacunas virales inactivadas

Las vacunas de virus de la influenza A y B inactivadas están autorizadas para uso parenteral en el ser humano. Los organismos federales y la Organización Mundial de la Salud cada año hacen recomendaciones sobre cuáles cepas debieran incluirse en la vacuna. La vacuna suele ser un cóctel que contiene uno o dos virus de tipo A y un virus de tipo B de las cepas aisladas en los brotes epidémicos del invierno previo.

Las cepas de siembra seleccionadas se multiplican en huevos embrionados, el sustrato utilizado para la producción de la vacuna. A veces las cepas naturales se multiplican muy deficientemente en los huevos para permitir la producción de la vacuna, en cuyo caso se elabora un virus reensamblado en el laboratorio. El virus reensamblado, que porta los genes para los antígenos de superficie de la vacuna deseada con los genes de replicación de un virus de laboratorio adaptado a huevo, se utilizan luego para la producción de la vacuna.

El virus se obtiene del líquido alantoico de huevo, purificado, concentrado mediante centrifugación zonal e inactivado con formalina o propiolactona β. La cantidad de HA se estandariza en cada dosis de vacuna (aproximadamente 15 μg de antígeno), pero la cantidad de NA no está normalizada, pues es más lábil bajo las condiciones de purificación y almacenamiento. Cada dosis de vacuna contiene el equivalente a casi 10 000 millones de partículas de virus.

Las vacunas son preparados de virus entero (WV, *whole virus*), de subvirión (SV, *subvirion*) o de antígeno de superficie. La vacuna de WV contiene virus intactos inactivados, la de SV contiene virus purificado que se destruye con detergentes; las vacunas de antígeno de superficie contienen glucoproteínas de HA y NA purificadas. Todas son eficaces.

B. Vacunas de virus vivos

Una vacuna de virus vivos se debe atenuar para no provocar la enfermedad que supuestamente debiera prevenir. En vista del cambio constante de los virus de la influenza en la naturaleza y las intensas actividades de laboratorio necesarias para atenuar un virus virulento, la única estrategia factible es idear una manera de transferir genes atenuantes definidos de un virus donador maestro atenuado a cada nueva cepa epidémica o pandémica.

Un virus donador adaptado al frío, con capacidad para multiplicarse a una temperatura de 25°C pero no a 37°C (la temperatura de las vías respiratorias bajas) debe replicarse en la nasofaringe, la cual tiene una temperatura más fría (33°C). En Estados Unidos en 2003 se autorizó una vacuna de virus de la influenza vivo atenuado, adaptado al frío, sensible a temperatura y trivalente, de administración mediante atomización nasal. Fue

la primera vacuna de virus de la influenza vivos autorizada en Estados Unidos, y la primera vacuna de administración nasal en este país.

C. Uso de vacuna de la influenza

La única contraindicación para la vacunación es un antecedente de alergia a la proteína del huevo. Puesto que las cepas de la vacuna se multiplican en huevos, algunos antígenos de proteína del huevo están presentes en la vacuna.

Se recomienda la vacunación anual contra la influenza en todos los niños de seis meses a 18 años de edad y en los grupos con alto riesgo. Éstos comprenden los individuos con un mayor riesgo de complicaciones relacionadas con la influenza (los que tienen cardiopatía o neumopatía crónicas, incluidos los niños con asma, o trastornos metabólicos o renales, residentes de hogares para ancianos; personas infectadas por el virus de la inmunodeficiencia humana [VIH], y las personas de 65 y más años de edad), así como los que podrían transmitir la influenza a grupos de alto riesgo (personal médico, empleados de centros de asistencia a enfermedades crónicas, miembros de la familia). La vacuna intranasal de virus vivos en la actualidad no se recomienda en personas de grupos con alto riesgo.

Prevención mediante la higiene de las manos

Aunque la transmisión del virus de la influenza ocurre principalmente mediante propagación en aerosoles, la transmisión a través de las manos puede ser también importante. Los estudios han demostrado que el lavado de manos con jabón y agua o el empleo de frotaciones de las manos con soluciones con base de alcohol son muy eficaces para reducir la cantidad de virus presentes en las manos humanas.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones con respecto a la prevención y el tratamiento de la influenza es correcta?
   (A) No se recomiendan dosis de refuerzo de la vacuna
   (B) Los fármacos que inhiben la neuraminidasa son activos sólo contra la influenza A
   (C) Al igual que con algunas otras vacunas de microorganismos vivos, la vacuna contra la influenza no debe administrarse a mujeres embarazadas
   (D) La vacuna contra la influenza contiene varios serotipos de virus
   (E) Las cepas de virus de la vacuna contra la influenza no varían de un año a otro
2. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a la neuraminidasa del virus de la influenza no es correcta?
   (A) Está embebida en la superficie externa de la envoltura viral
   (B) Forma una estructura de espiga que consta de cuatro monómeros idénticos, cada uno de los cuales tiene actividad enzimática
   (C) Facilita la liberación de las partículas virales de células infectadas
   (D) Disminuye la viscosidad de la película de moco en el sistema respiratorio
   (E) Es antigénicamente similar en todos los virus de la influenza de mamíferos
3. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones refleja la patogenia de la influenza?
   (A) El virus entra en el hospedador en las gotitas de las secreciones respiratorias presentes en el aire
   (B) La viremia es frecuente
   (C) El virus a menudo establece infecciones persistentes en el pulmón
   (D) La neumonía no se relaciona con infecciones bacterianas secundarias
   (E) La infección viral no destruye las células en un sistema respiratorio
4. ¿Cuál de los siguientes síntomas no es característico de la influenza?
   (A) Fiebre
   (B) Mialgias
   (C) Ataque al estado general
   (D) Tos seca
   (E) Exantema
5. El antígeno de tipo específico (A, B o C) de los virus de la influenza se encuentra en cuál componente viral
   (A) Hemaglutinina
   (B) Neuraminidasa
   (C) Nucleocápside
   (D) Complejo de polimerasa
   (E) Proteína no estructural mayor
   (F) Lípido en la envoltura viral
6. Una paciente de 70 años de edad internada en un asilo se rehusó a la vacuna contra la influenza y después presentó la enfermedad. Falleció por neumonía aguda una semana después de contraer la influenza. La causa más frecuente de la neumonía aguda después de la influenza es cuál de las siguientes
   (A) *Legionella*
   (B) *Staphylococcus aureus*
   (C) Sarampión
   (D) Citomegalovirus
   (E) *Listeria*
7. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a la deriva antigénica en los virus de la influenza es correcta?
   (A) Produce cambios antigénicos importantes
   (B) Se manifiesta sólo por los virus de la influenza A
   (C) Se debe a mutaciones de cambio de marco de lectura en los genes virales
   (D) Produce nuevos subtipos con el tiempo
   (E) Afecta predominantemente a la proteína de la matriz
8. Un médico de 32 años de edad presentó un síndrome “seudogripal” caracterizado por fiebre, faringitis, cefalea y mialgias. Para poder obtener la confirmación de la influenza mediante el análisis de laboratorio, se ordenó un cultivo del virus. ¿Cuál de los siguientes sería el mejor espécimen para aislar el virus causante de esta infección?
   (A) Heces
   (B) Lavado nasofaríngeo
   (C) Líquido vesicular
   (D) Sangre
   (E) Saliva
9. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones con respecto al aislamiento de los virus de la influenza es correcta?
   (A) El diagnóstico de una infección del virus de la influenza sólo puede establecerse aislando el virus
   (B) El aislamiento del virus de la influenza se realiza utilizando ratones recién nacidos
   (C) El aislamiento del virus puede ayudar a determinar la epidemiología de la enfermedad
   (D) Las cepas primarias del virus de la influenza se multiplican fácilmente en el cultivo celular

10. ¿Cuál de los siguientes parece ser el principal reservorio de las variantes antigénicas del virus de la influenza?
    (A) Portadores humanos crónicos del virus
    (B) Aguas residuales
    (C) Cerdos, caballos y zorros
    (D) Mosquitos
    (E) Roedores
11. El virus de la influenza aviar H5N1 muy patógeno (HPAI) puede infectar al ser humano con una alta tasa de mortalidad, pero todavía no ha producido una pandemia. Las siguientes son características del HPAI, excepto una. ¿Cuál no es?
    (A) Transmisión de humano a humano eficiente
    (B) Presencia de genes de la influenza aviar
    (C) Infección eficiente de aves de corral domésticas
    (D) Contiene genomas de RNA segmentado
12. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a las pruebas diagnósticas de la influenza es correcta?
    (A) Los síntomas clínicos distinguen de manera fiable la influenza de otras enfermedades respiratorias
    (B) El cultivo viral es la prueba diagnóstica "de referencia", pues es el análisis más rápido
    (C) Las respuestas de anticuerpo del paciente son muy específicas de la cepa que infecta al virus de la influenza
    (D) Se prefiere la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa por su rapidez, sensibilidad y especificidad

Respuestas

1. D	4. E	7. D	10. C
2. E	5. C	8. B	11. A
3. A	6. B	9. C	12. D

BIBLIOGRAFÍA

Avian influenza fact sheet. World Health Org Wkly Epidemiol Rec 2006;81:129.

Couch RB: Prevention and treatment of influenza. N Engl J Med 2000;343:1778. [PMID: 11114318]

Gambotto A et al: Human infection with highly pathogenic H5N1 influenza virus. Lancet 2008;371:1464. [PMID: 18440429]

Horimoto T, Kawaoka Y: Influenza: Lessons from past pandemics, warnings from current incidents. Nature Rev Microbiol 2005;3:591. [PMID: 16064053]

Influenza vaccination of health-care personnel. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the Advisory Committee on Immunization Practices. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2006;55(RR-2):1.

Neumann G, Noda T, Kawaoka Y: Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. Nature 2009;459:931. [PMID: 19525932]

Olsen B et al: Global patterns of influenza A virus in wild birds. Science 2006;312:384. [PMID: 16627734]

Palese P, Shaw ML: Orthomyxoviridae: The viruses and their replication. In: *Fields Virology,* 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Prevention and control of influenza. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2008. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2008;57(RR-7):1.

Seasonal and pandemic influenza: At the crossroads, a global opportunity. J Infect Dis 2006;194(Suppl 2). [Entire issue.]

Special section: Novel 2009 influenza A H1N1 (swine variant). J Clin Virol 2009;45:169. [10 articles.]

Taubenberger JK, Morens DM (guest editors): Influenza. Emerging Infect Dis 2006;12:1. [Entire issue.]

Wright PF, Neumann G, Kawaoka Y: Orthomyxoviruses. In: *Fields Virology,* 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.



CAPÍTULO

40

Paramixovirus y virus de la rubéola

Los paramixovirus comprenden los microorganismos más importantes de las infecciones respiratorias de lactantes y niños pequeños (virus sincitial respiratorio y los virus de la parainfluenza), así como los microorganismos causantes de dos de las enfermedades contagiosas más frecuentes en la infancia (parotiditis y sarampión). La Organización Mundial de la Salud estima que las infecciones respiratorias agudas y la neumonía cada año son causa de muertes de cuatro millones de niños menores de cinco años de edad en todo el mundo. Los paramixovirus son los principales microorganismos patógenos del sistema respiratorio en este grupo de edad.

Todos los miembros de la familia **Paramyxoviridae** inician la infección a través del sistema respiratorio. La replicación de microorganismos patógenos respiratorios está limitada a los epitelios respiratorios, en tanto que el sarampión y la parotiditis se diseminan por todo el organismo y producen enfermedad generalizada.

El virus de la rubéola, aunque clasificado como un togavirus por sus propiedades químicas y físicas (véase el cap. 29), puede considerarse dentro de los paramixovirus basándose en los aspectos epidemiológicos.

PROPIEDADES DE LOS PARAMIXOVIRUS

En el cuadro 40-1 se enumeran las principales propiedades de los paramixovirus.

Estructura y composición

Los **Paramyxoviridae** son polimorfos, con partículas de 150 nm o más de diámetro, que a veces fluctúan hasta los 700 nanómetros. En la figura 40-1 se muestra una partícula característica. La envoltura de los paramixovirus al parecer es frágil y hace que las partículas virales sean lábiles a las condiciones de almacenamiento y propensas a la distorsión en las microfotografías electrónicas.

El genoma viral es RNA lineal, de polaridad negativa, monocatenario y no segmentado, de unas 15 kb de tamaño (fig. 40-2). Puesto que el genoma no está segmentado, esto impide toda oportunidad de reensamble genético frecuente, lo que da por resultado que todos los miembros del grupo paramixovirus sean antigénicamente estables.

La mayor parte de los paramixovirus contienen seis proteínas estructurales. Tres proteínas forman complejos con el RNA viral: la nucleoproteína (N) que forma la nucleocápside helicoidal (13 o 18 nm de diámetro) y representa la proteína interna principal y otras dos grandes proteínas (designadas P y L), que intervienen en la actividad de la polimerasa viral que funciona en la transcripción y la replicación de RNA.

Tres proteínas participan en la formación de la envoltura viral. Una proteína de la matriz (M) subyace a la envoltura viral; tiene una afinidad tanto por las glucoproteínas N como las de la superficie viral y es importante en el ensamble del virión. La nucleocápside está rodeada por una envoltura lipídica que está tachonada de espigas de 8 a 12 nm de dos diferentes glucoproteínas transmembranarias. Las actividades de estas glucoproteínas de superficie ayudan a diferenciar los distintos géneros de la familia Paramixoviridae (cuadro 40-2). La glucoproteína más grande (HN o G) puede o no poseer actividades de hemaglutinación y neuraminidasa y a ellas se debe la adherencia a la célula hospedadora. Se ensambla como un tetrámero en el virión maduro. La otra glucoproteína (F) sirve de mediadora de la fusión de la membrana y de actividades de hemolisina. Los neumovirus y los metaneumovirus contienen dos proteínas de envoltura pequeñas adicionales (M2-1 y SH).

En la figura 40-3 se muestra un esquema de una partícula de paramixovirus.

CUADRO 40-1 Propiedades importantes de los paramixovirus

Virión: Esférico, polimorfo, 150 nm o más de diámetro (nucleocápside helicoidal, 13 a 18 nm)
Composición: RNA (1%), proteína (73%), lípidos (20%), hidrato de carbono (6%)
Genoma: RNA monocatenario, lineal, no segmentado, de polaridad negativa, no infeccioso, de unas 15 kb
Proteínas: Seis a 8 proteínas estructurales
Envoltura: Contiene la glucoproteína viral (G, H o HN) (que a veces es portadora de actividad de hemaglutinina o neuraminidasa) y glucoproteína de fusión (F); muy frágil
Replicación: Citoplasma; las partículas experimentan gemación desde la membrana plasmática
Características sobresalientes: Antigénicamente estable; Las partículas son lábiles pero muy infecciosas

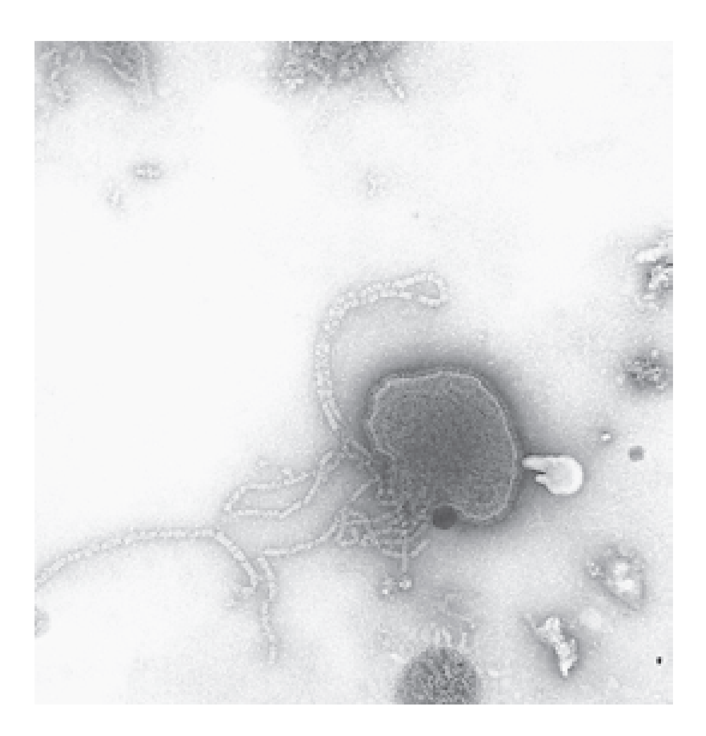


FIGURA 40-1 Ultraestructura del virus de la parainfluenza de tipo 1. El virión está parcialmente roto, mostrando la nucleocápside. Las proyecciones de la superficie son visibles a lo largo del borde de la partícula. (Cortesía de FA Murphy y EL Palmer.)

Clasificación

La familia Paramixoviridae se divide en dos familias y siete géneros, de los cuales seis contienen microorganismos patógenos humanos (cuadro 40-2). La mayor parte de los miembros son monotípicos (es decir, constan de un solo serotipo); todos son antigénicamente estables.

El género *Respirovirus* contiene dos serotipos de virus de la parainfluenza humana y el género *Rubulavirus* contiene otros dos virus de la parainfluenza, así como virus de la parotiditis. Algunos virus animales están relacionados con las cepas humanas. El virus Sendai de los ratones, que fue el primer virus de la parainfluenza que se aisló y que ahora se reconoce como una infección frecuente en colonias de ratones, es un subtipo de virus de tipo 1 humano. El virus 5 de la parainfluenza del simio (SV5 o PIV5), un contaminante frecuente de las células primarias de simio, es el mismo que el de la parainfluenza canina de tipo 2, en tanto que el virus de la fiebre del transporte de ganado vacuno y ovino es un subtipo del tipo 3. El virus de la enfermedad de Newcastle, el prototipo de virus de la parainfluenza aviar del género *Avulavirus,* también está relacionado con los virus humanos.

Los miembros dentro de un género tienen determinantes antigénicas en común. Aunque los virus se pueden distinguir antigénicamente utilizando reactivos bien definidos, la hiperinmunización estimula los anticuerpos de reacción cruzada que reaccionan con los cuatro virus de la parainfluenza, el virus del sarampión y el virus de la enfermedad de Newcastle. Tales

Director
Arrastrador
3′ N P/V/C M F HN L 5′ **Respirovirus** –Virus de Sendai
3′ N V/P M F SH HN L 5′ **Rubulavirus** –Virus de simio 5
3′ N P/V/C M F HN L 5′ **Morbillivirus** –Virus del sarampión
3′ N P/V/C M F G L 5′ **Henipavirus** –Virus de Nipah
3′ NS1 NS2 N P M SH G F M2 L 5′ **Pneumovirus** –Virus sincitial respiratorio
3′ N P M F M2 SH G L 5′ **Metaneumovirus** –Metaneumovirus humano
3′ N P/V/C M F SH TM G X L 5′ –Virus J

FIGURA 40-2 Mapas genéticos de miembros representativos de los géneros de la familia Paramixoviridae. Los tamaños de los genes (cajas) están dibujados aproximadamente a escala. (Copyright GD Parks and RA Lamb, 2006.)

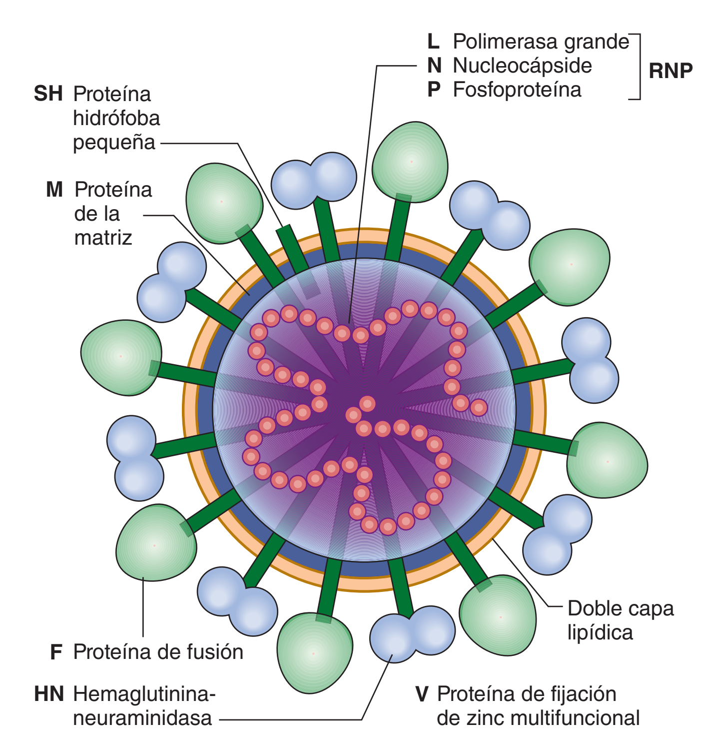


FIGURA 40-3 Diagrama esquemático de un paramixovirus que muestra los principales componentes (no dibujados a escala). La proteína de la matriz viral (M) subyace a la doble capa lipídica. Insertadas a través de la membrana viral están la glucoproteína de adherencia hemaglutinina-neuraminidasa (HN) y la glucoproteína de fusión (F). Sólo algunos paramixovirus contienen la proteína HN. En el interior del virus se localiza el RNA del virión de tira negativa, envuelto en la proteína de la nucleocápside (N). Las proteínas L y P están asociadas a la nucleocápside y en conjunto este complejo tiene una actividad de transcriptasa de RNA dependiente de ácido ribonucleico. La proteína V solamente se encuentra en los viriones de rubulavirus. (Copyright GD Parks y RA Lamb, 2006.)

respuestas de anticuerpo heterotípico, que comprenden anticuerpos dirigidos contra las proteínas internas y de superficie del virus suelen observarse en las personas ancianas. Este fenómeno dificulta determinar mediante serodiagnóstico el tipo infectante más probable. Todos los miembros de los géneros *Respirovirus* y *Rubulavirus* poseen actividades hemaglutinantes y de neuraminidasa, ambas portadas por la glucoproteína HN, así como propiedades de fusión de membrana y hemolisina, las dos funciones de la proteína F.

El género *Morbillivirus* contiene el virus del sarampión en personas, así como el virus del moquillo de los perros, el virus de la peste bovina y los morbilivirus acuáticos que infectan a mamíferos marinos. Estos virus tienen una relación antigénica entre sí pero no con los miembros de los otros géneros. La proteína F se conserva en alto grado entre los morbilivirus, en tanto que las proteínas HN/G muestran más variabilidad. El virus del sarampión tiene una hemaglutinina pero carece de actividad de neuraminidasa. El virus del sarampión desencadena la formación de inclusiones intranucleares, a diferencia de otros paramixovirus.

El género *Henipavirus* contiene paramixovirus zoonóticos que pueden infectar y causar enfermedades en el ser humano. Los virus Hendra y Nipah, los dos naturales de los murciélagos de la fruta, son miembros del género. Estos virus carecen de actividad de neuraminidasa.

Los virus sincitiales respiratorios de seres humanos y del ganado bovino y el virus de la neumonía de los ratones constituyen el género *Pneumovirus.* Existen dos cepas antigénicamente distintivas del virus sincitial respiratorio del ser humano, los subgrupos A y B. La glucoproteína de superficie más grande de los neumovirus carece de las actividades hemaglutinante y de neuraminidasa características de los respirovirus y los rubulavirus, de manera que se designa la proteína G. La proteína F del virus sincitial respiratorio muestra una actividad de fusión de membrana pero ninguna actividad de hemolisina. Los microorganismos patógenos respiratorios recién reconocidos en el ser humano se clasifican bajo el género *Metapneumovirus.*

Replicación del paramixovirus

En la figura 40-4 se ilustra el ciclo de replicación característico del paramixovirus.

A. Adherencia, penetración y desenvoltura del virus

Los paramixovirus se adhieren a las células hospedadoras a través de la glucoproteína hemaglutinina (HN, H o proteína G). En el caso del virus del sarampión, el receptor es la molécula CD46 de membrana o la molécula CD150. Acto seguido, la envoltura del virión se fusiona con la membrana celular por la acción del producto de desdoblamiento de la glucoproteína F_1 de fusión. La proteína F_1 experimenta un repliegue complejo durante el proceso de fusión de la membrana viral y celular. Si no está desdoblado el precursor de F_0, no tiene actividad de fusión, no ocurre penetración del virión y la partícula viral no puede iniciar la infección. La fusión por F_1 ocurre en el pH neutral del medio extracelular, permitiendo la liberación directa de la nucleocápside viral en la célula. Por consiguiente, los paramixovirus pueden desviar la interiorización a través de los endosomas.

B. Transcripción, traducción y replicación de RNA

Los paramixovirus contienen un genoma de RNA no segmentado, de tira negativa. Los transcriptos de RNA mensajero se elaboran en el citoplasma celular por la acción de la polimerasa de RNA viral. No son necesarios los sensibilizadores exógenos y por tanto no hay dependencia de las funciones nucleares de la célula. Los mRNA son mucho más pequeños que el tamaño genómico; cada uno representa un solo gen. Las secuencias reguladoras de la transcripción en los límites del gen señalan el inicio de la transcripción y la terminación. La posición de un gen en relación con el extremo 3′ del genoma se correlaciona con la eficiencia de la transcripción. La clase de transcriptos más abundantes que produce una célula infectada es del gen N, situado más cerca del extremo 3′ del genoma, en tanto que la menos abundante es la del gen L situado en el extremo 5′ (fig. 40-2).

Las proteínas virales son sintetizadas en el citoplasma y la cantidad de cada producto de gen corresponde al grado de transcriptos de mRNA de ese gen. Las glucoproteínas virales son sintetizadas y glucosiladas en la vía secretora.

El complejo de proteína de la polimerasa viral (proteínas P y L) también interviene en la replicación del genoma viral. Para la síntesis satisfactoria de un molde intermedio antigenoma de tira positiva, el complejo de polimerasa debe descartar las señales de terminación interpuestas en los límites del gen. Después, los genomas de la progenie de longitud completa son copiados del molde antigenómico.

CUADRO 40-2 Características de los géneros de las subfamilias de la familia Paramixoviridae

	Paramyxovirinae				Pneumovirinae	
Propiedad	***Respirovirus***	***Rubulavirus***	***Morbillivirus***	***Henipavirus***[a]	***Pneumovirus***	***Metapneumovirus***
Virus humanos	Parainfluenza 1, 3	Parotiditis, parainfluenza 2, 4a, 4b	Sarampión	Hendra, Nipah	Virus sincitial respiratorio	Metaneumovirus humano
Serotipos	1 cada uno	1 cada uno	1	?	2	1
Diámetro de la nucleocápside (nm)	18	18	18	18	13	13
Fusión de membrana (proteína F)	+	+	+	+	+	+
Hemolisina[b]	+	+	+	?	0	0
Hemaglutinina[c]	+	+	+	0	0	0
Hemadsorción	+	+	+	0	0	0
Neuraminidasa[c]	+	+	0	0	0	0
Inclusiones[d]	C	C	N,C	C	C	?

[a]Paramixovirus zoonótico.

[b]Actividad de hemolisina de la glucoproteína F.

[c]Las actividades de hemaglutinación y neuraminidasa se deben a la glucoproteína HN de los respivirus y los rubulavirus; la glucoproteína H de los morbilivirus carece de actividad de neuraminidasa; la glucoproteína G de otros paramixovirus carece de las dos actividades.

[d]C, citoplasma; N, núcleo.

El genoma no segmentado de los paramixovirus niega la posibilidad de revolver de nuevo el segmento del gen (es decir, el reensamble genético) tan importante para la evolución natural de los virus de la influenza. Las proteínas de superficie HN/H/G y F de los paramixovirus muestran una variación antigénica mínima por periodos prolongados. Es sorprendente que no experimenten deriva antigénica como resultado de las mutaciones introducidas durante la replicación, ya que las polimerasas de RNA por lo general son propensas a errores. Una posible explicación es que casi todos los aminoácidos en las estructuras primarias de las glucoproteínas de paramixovirus pueden intervenir en sus funciones estructurales o funcionales, quedando poca oportunidad para las sustituciones que notablemente no reducirían la viabilidad del virus.

C. Maduración

El virus madura por gemación desde la superficie celular. Las nucleocápsides de la progenie se forman en el citoplasma y emigran hacia la superficie de la célula. Son atraídas a los lugares de la membrana plasmática que están tachonados de espigas de glucoproteína viral HN/H/G y F_0. La proteína M es esencial para la formación de partículas y sirve de enlace de la envoltura viral con la nucleocápside. Durante la gemación, la mayor parte de las proteínas del hospedador es excluida de la membrana.

La actividad de neuraminidasa de la proteína HN de los virus de la parainfluenza y el virus del sarampión supuestamente funciona impidiendo la autoagregación de partículas virales. Otros paramixovirus no poseen actividad de neuraminidasa (cuadro 40-2).

Si están presentes las proteasas apropiadas de la célula hospedadora, las proteínas de F_0 en la membrana plasmática se activarán mediante desdoblamiento. La proteína de fusión activada producirá luego la fusión de membranas celulares adyacentes, lo que da por resultado la formación de grandes sincitios (fig. 40-5). La formación de sincitio es una respuesta frecuente a la infección por paramixovirus. Por lo regular se forman inclusiones citoplásmicas acidófilas (fig. 40-5). Se considera que las inclusiones reflejan lugares de síntesis viral y se ha demostrado que contienen nucleocápsides reconocibles y proteínas virales. El virus del sarampión también produce inclusiones intranucleares (fig. 40-5).

INFECCIONES POR EL VIRUS DE LA PARAINFLUENZA

Los virus de la parainfluenza son ubicuos y producen enfermedades respiratorias frecuentes en personas de todas las edades. Son microorganismos patógenos importantes que causan enfermedades respiratorias graves en los lactantes y en los niños pequeños. Sólo el virus sincitial respiratorio, y tal vez el metaneumovirus humano, produce más casos de enfermedad respiratoria grave en los niños. Son frecuentes las reinfecciones por los virus de la parainfluenza.

Patogenia y anatomía patológica

La replicación del virus de la parainfluenza en el hospedador inmunocompetente al parecer está limitada a los epitelios respiratorios. La viremia, si se llega a presentar, es infrecuente. La infección puede afectar sólo a la nariz y la garganta, y producir un síndrome de “resfriado común” inocuo. Sin embargo, la infección puede ser más extensa y, sobre todo con los tipos 1 y 2, puede afectar a la laringe y a la porción superior de la tráquea,

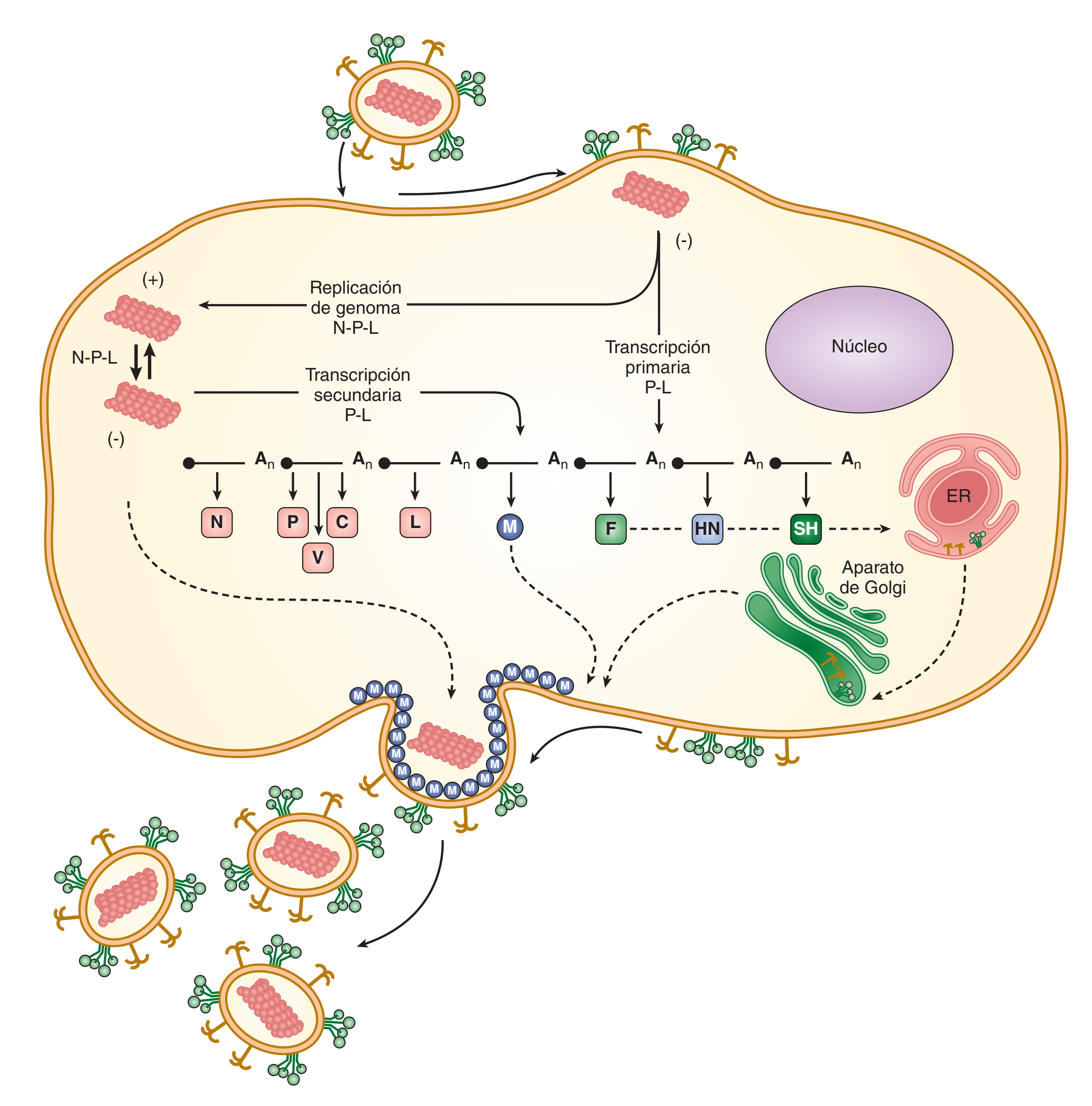


FIGURA 40-4 Ciclo de vida del paramixovirus. La partícula viral infectante se fusiona con la membrana plasmática y libera la nucleocápside viral hacia el citoplasma. Las líneas sólidas representan transcripción y replicación del genoma. Las líneas discontinuas indican el transporte de proteínas virales recién sintetizadas a la membrana plasmática. Los viriones de la progenie son liberados de la célula por un proceso de gemación. Todo el ciclo de replicación del paramixovirus ocurre en el citoplasma de la célula. (Copyright GD Parks y RA Lamb, 2006.)

dando lugar a laringotraqueobronquitis (crup). El crup se caracteriza por obstrucción respiratoria debida a edema de la laringe y estructuras relacionadas. La infección puede diseminarse hacia la porción inferior de la tráquea y los bronquios, culminando en una neumonía o una bronquiolitis, sobre todo por el virus de tipo 3, pero con una frecuencia mucho menor que la observada con el virus sincitial respiratorio.

La duración de la eliminación del virus de la parainfluenza es de casi una semana después que comienza la enfermedad; algunos niños pueden excretar el virus varios días antes de la infección. El virus de tipo 3 se puede excretar hasta por cuatro semanas después del inicio de la enfermedad primaria. Esta eliminación persistente en los niños pequeños facilita la propagación de la infección. La eliminación viral prolongada puede ocurrir en los niños con alteraciones de la función inmunitaria y en los adultos con neumopatías crónicas.

Los factores que determinan la gravedad de la enfermedad por el virus de la parainfluenza no están claros pero comprenden las propiedades virales y del hospedador, por ejemplo la susceptibilidad de la proteína al desdoblamiento por diferentes proteasas, la producción de una proteasa apropiada por las células hospedadoras, el estado inmunitario del paciente y la hiperreactividad de las vías respiratorias.

La producción de anticuerpos IgE específicos del virus durante las infecciones primarias se ha relacionado con la gravedad de la enfermedad. El mecanismo puede consistir en la liberación de mediadores de la inflamación que modifican la función de las vías respiratorias.

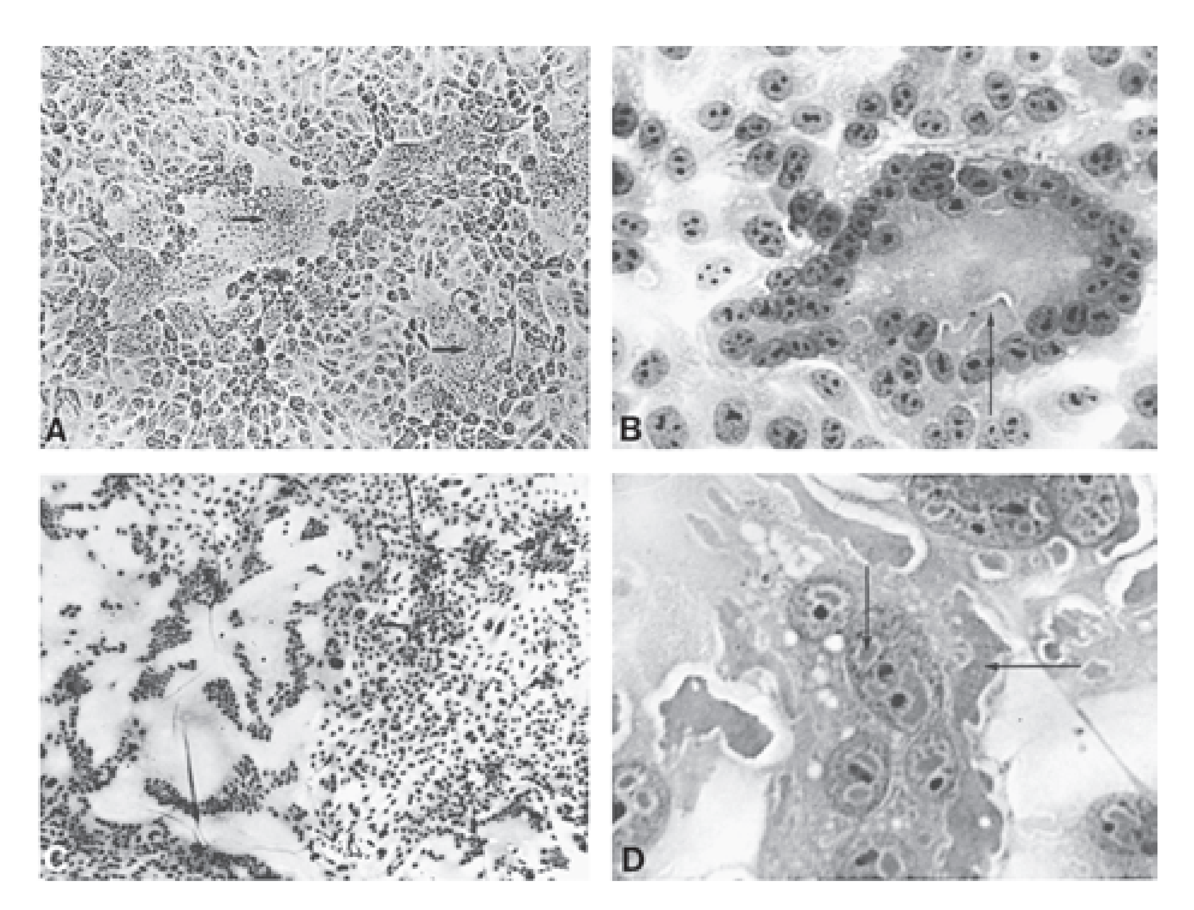


FIGURA 40-5 Formación sincitial provocada por los paramixovirus. **A:** Virus sincitial respiratorio en las células MA104 (sin tinción, 100×). Los sincitios (*flechas*) se deben a la fusión de membranas plasmáticas. Los núcleos se acumulan en el centro. **B:** Virus sincitial respiratorio en células HEp-2 (tinción con H y E, 400×). El sincitio contiene muchos núcleos e inclusiones citoplásmicas acidófilas (*flecha*). **C:** Virus del sarampión en las células renales humanas (tinción de H y E, 30×). Un enorme sincitio contiene centenares de núcleos. **D:** Virus del sarampión en células renales humanas (tinción de H y E, 400×). La célula gigante multinucleada contiene inclusiones nucleares acidófilas (*flecha vertical*) e inclusiones citoplásmicas (*flecha horizontal*). (Utilizado con autorización de I Jack.)

Manifestaciones clínicas

En el cuadro 30-4 se indica la importancia relativa de los virus de la parainfluenza como causa de las enfermedades respiratorias en diferentes grupos de edad. En la figura 40-6 se muestra su presencia en las infecciones respiratorias bajas en niños pequeños.

Las infecciones primarias en los niños pequeños por lo general producen rinitis y faringitis, a menudo con fiebre y algo de bronquitis. Sin embargo, los niños con infecciones primarias causadas por los virus de la parainfluenza de tipos 1, 2 o 3 pueden tener una enfermedad grave que fluctúa desde la laringotraqueítis y el crup (sobre todo los de tipos 1 y 2) hasta la bronquiolitis y la neumonía (sobre todo por el de tipo 3). La enfermedad grave producida por el de tipo 3 se presenta principalmente en los lactantes de menos de seis meses de edad; el crup o laringotraqueobronquitis tiene más posibilidades de presentarse en los niños mayores, de entre seis y 18 meses de edad. Más de la mitad de las infecciones iniciales por los virus de la parainfluenza de tipos 1 a 3 producen enfermedad febril. Se estima que sólo 2 a 3% presentan crup. El virus de la parainfluenza de tipo 4 no produce enfermedad grave, incluso en la primera infección.

La complicación más frecuente de la infección por el virus de la parainfluenza es la otitis media.

Los niños y los adultos inmunodeficientes son susceptibles a las infecciones graves. Las tasas de mortalidad tras la infección por el virus de la parainfluenza en receptores de trasplante de médula ósea fluctúan de 10 a 20 por ciento.

El virus de la enfermedad de Newcastle es un paramixovirus aviar que produce neumoencefalitis en pollos jóvenes e “influenza” en aves más viejas. En el ser humano, produce inflamación de la conjuntiva. El restablecimiento es completo en un lapso de 10 a 14 días. La infección en el ser humano es una enfermedad laboral limitada a trabajadores que manipulan aves infectadas.

Inmunidad

Los virus de la parainfluenza de tipos 1 a 3 son serotipos distintivos que carecen de neutralización cruzada importante (cuadro 40-2). Prácticamente todos los lactantes tienen anticuerpos maternos contra los virus presentes en el suero, pero estos anticuerpos no evitan la infección o la enfermedad. La reinfección de niños mayores y adultos también se presenta cuando los anticuerpos son desencadenados por una infección previa. Sin embargo, los anticuerpos modifican la enfermedad, ya que tales reinfecciones suelen manifestarse simplemente como infecciones respiratorias altas no febriles (resfriados comunes).

La infección natural estimula la aparición de anticuerpo IgA en las secreciones nasales y la resistencia concomitante a la reinfección. Los anticuerpos IgA secretores son muy importantes para brindar protección contra la reinfección pero desapa-

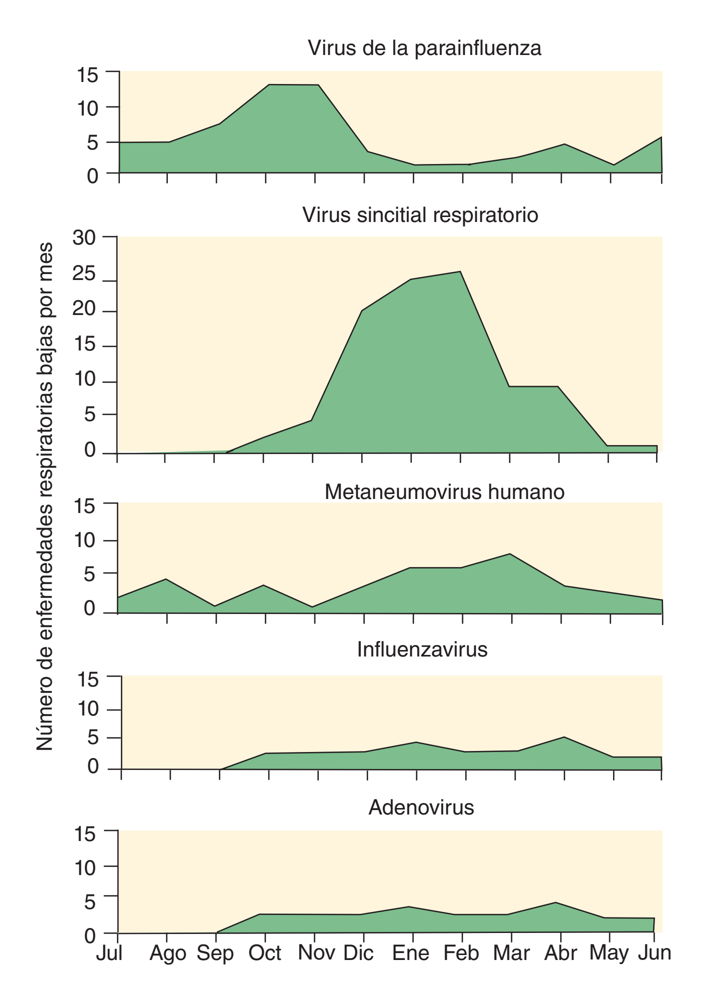


FIGURA 40-6 Los tipos de infecciones de las vías respiratorias bajas en lactantes y niños pequeños con paramixovirus y otros virus. Datos derivados de 25 años de vigilancia (1976-2001), que abarcan 2 009 niños desde el nacimiento hasta los cinco años de edad. (Reproducida con autorización de Williams JV et al: Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children. N Engl J Med 2004;350:443.)

recen a los pocos meses. Por consiguiente, las reinfecciones son frecuentes incluso en los adultos.

Los anticuerpos séricos se elaboran contra las proteínas de superficie viral HN y F, pero se desconoce su función relativa como determinante de la resistencia. A medida que ocurren las reinfecciones sucesivas, la respuesta de anticuerpos se vuelve menos específica debido a los determinantes antigénicos compartidos entre los virus de la parainfluenza y el virus del sarampión. Esto dificulta el diagnóstico de los paramixovirus específicos relacionados con una determinada infección utilizando los análisis serológicos.

Diagnóstico de laboratorio

La respuesta inmunitaria a la infección inicial por el virus de la parainfluenza en la vida es específica de tipo. Sin embargo, con las infecciones repetidas, la respuesta se vuelve menos específica y las reacciones cruzadas se extienden incluso al virus de la parotiditis. Los métodos de detección de antígeno son útiles para el diagnóstico rápido. El diagnóstico definitivo se basa en el aislamiento del virus en especímenes apropiados o en la detección de RNA viral mediante la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR, *reverse transcription-polymerase chain reaction*).

A. Detección de antígeno

Se suele llevar a cabo la identificación directa de antígenos virales en los especímenes. Se pueden detectar antígenos en las células nasofaríngeas exfoliadas mediante pruebas de inmunofluorescencia directas o indirectas. Estos métodos son rápidos pero menos sensibles que el aislamiento del virus y se deben controlar meticulosamente. Los reactivos inmunitarios muy específicos son esenciales cuando es conveniente la identificación del serotipo específico.

B. Aislamiento e identificación del virus

Los lavados nasales son muestras satisfactorias para el aislamiento del virus. También se ha utilizado el líquido del lavado broncoalveolar y tejido pulmonar. Un linaje continuo de nefronas de mono, LLC-MK_2, es adecuado para el aislamiento de los virus de la parainfluenza. La inoculación rápida de las muestras en cultivos celulares es importante para el aislamiento viral satisfactorio, ya que la infecciosidad viral desciende con rapidez cuando se almacenan las muestras clínicas.

Para el diagnóstico rápido, las muestras se inoculan en células que se multiplican en portaobjetos en tubos especiales y se centrifugan (30 min a 700 × g) y se incuban los cultivos. Veinticuatro a 72 h más tarde, las células se fijan y se analizan mediante inmunofluorescencia utilizando anticuerpos monoclonales. Si es conveniente, se pueden utilizar reservas de anticuerpos para múltiples virus respiratorios, después de lo cual se lleva a cabo la tipificación específica de muestras positivas con anticuerpos individuales.

Los virus de la parainfluenza se multiplican con lentitud y producen un efecto citopático muy escaso. Otra forma de detectar la presencia del virus consiste en llevar a cabo la hemadsorción utilizando eritrocitos de cobayos. Dependiendo de la cantidad de virus, pueden necesitarse 10 o más días de incubación antes que los cultivos tengan positividad para hemadsorción.

C. Detección de ácido nucleico

Los análisis de reacción en cadena de la polimerasa se pueden utilizar para detectar RNA viral en los lavados nasales o en los frotis de secreción nasal y faríngea. Los análisis de RT-PCR tienen la misma sensibilidad que los métodos de cultivo celular. Los análisis de secuencia son útiles en los estudios de epidemiología molecular de las infecciones por el virus de la parainfluenza.

D. Diagnóstico serológico

El diagnóstico serológico debe basarse en sueros pares. Las respuestas de anticuerpos se pueden determinar utilizando pruebas de Nt, HI y enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA). Un incremento del cuádruplo en el título es indicativo de infección por un virus de la parainfluenza, lo mismo que la aparición de anticuerpo de IgM específico. Sin embargo, dados los problemas de los antígenos compartidos, es imposible confiar en el tipo de virus específico causal.

Epidemiología

Los virus de la parainfluenza son una causa importante de enfermedad de las vías respiratorias bajas en los niños pequeños (fig. 40-6). Los virus de la parainfluenza tienen una amplia distribución geográfica. El de tipo 3 es el más frecuente y casi dos tercios de los lactantes son infectados durante el primer año de vida; prácticamente todos tienen anticuerpos contra el tipo 3 hacia los dos años de edad. Las infecciones con los tipos 1 y 2 se presentan con una tasa más baja y alcanzan prevalencias de casi 75 y 60%, respectivamente, hacia los cinco años de edad.

El de tipo 3 es endémico y ocurre cierto incremento durante la primavera, en tanto que los de tipos 1 y 2 tienden a producir epidemia durante el otoño o el invierno, a menudo en un ciclo de dos años.

Las reinfecciones son frecuentes durante la infancia y en los adultos y producen enfermedades respiratorias altas leves. Según informes, 67% de los niños son reinfectados con el virus de la parainfluenza de tipo 3 durante el segundo año de vida. En el caso de reinfecciones puede ser necesaria la hospitalización de los adultos con enfermedades pulmonares crónicas (p. ej., asma).

Los virus de la parainfluenza son transmitidos por el contacto interpersonal directo o por aerosoles de grandes gotas. Se ha aislado el de tipo 1 en muestras de aire obtenidas en las cercanías de los pacientes infectados. Las infecciones pueden presentarse a través de la nariz y de los ojos.

Los virus de la parainfluenza por lo general se introducen en un grupo por los niños preescolares y luego se propagan fácilmente entre las personas. El periodo de incubación al parecer es de cinco a seis días. El virus de tipo 3, sobre todo, por lo general infectará a todas las personas susceptibles en una población semicerrada, como en una familia o en una guardería, en un breve periodo. Los virus de la parainfluenza son causas problemáticas de infección intrahospitalaria en los servicios de pediatría de los hospitales. Otras situaciones de alto riesgo son los jardines de niños y las escuelas.

Tratamiento y prevención

Se necesitan precauciones para el aislamiento de los contactos a fin de tratar los brotes intrahospitalarios del virus de la parainfluenza. Éstas comprenden restricción de visitantes, aislamiento de pacientes infectados y uso de batas y lavado de manos por el personal sanitario.

Se ha utilizado el fármaco antiviral ribavirina con ciertas ventajas en el tratamiento de los pacientes inmunodeficientes con infecciones respiratorias bajas.

No se dispone de ninguna vacuna.

INFECCIONES POR EL VIRUS SINCITIAL RESPIRATORIO

El virus sincitial respiratorio es la causa más importante de infecciones respiratorias bajas en lactantes y niños pequeños, por lo general superando a otros microorganismos patógenos como la causa de bronquiolitis y neumonía en los lactantes menores de un año de edad. Se estima que contribuyen a casi un 25% de las hospitalizaciones de niños debidas a enfermedades respiratorias.

Patogenia y anatomía patológica

La replicación del virus sincitial respiratorio ocurre al principio en células epiteliales de la nasofaringe. El virus puede diseminarse hacia las vías respiratorias bajas y causar bronquiolitis y neumonía. Se pueden detectar antígenos virales en las vías respiratorias altas y en las células epiteliales esfaceladas. La viremia se presenta raras veces en el peor de los casos.

El periodo de incubación entre la exposición y el inicio de la enfermedad es de tres a cinco días. La eliminación viral puede persistir durante una a tres semanas en los lactantes y en los niños pequeños, en tanto que los adultos eliminan los virus sólo durante uno a dos días. Se encuentran títulos virales elevados en las secreciones del sistema respiratorio de niños pequeños. El tamaño del inóculo es un factor importante que determina la infección satisfactoria en los adultos (y posiblemente también en los niños).

Un sistema inmunitario intacto al parecer es importante para resolver una infección, ya que los pacientes con alteraciones de la inmunidad mediada por células pueden infectarse de manera persistente por el virus sincitial respiratorio y eliminar el virus por meses.

Aunque las vías respiratorias de los lactantes muy pequeños son estrechas y se obstruyen más fácilmente por la inflamación y el edema, sólo un subgrupo de lactantes pequeños presenta infección grave por el virus sincitial respiratorio. Se ha informado que la susceptibilidad a la bronquiolitis está vinculada genéticamente con polimorfismos en genes inmunitarios innatos.

Manifestaciones clínicas

La gama de enfermedades respiratorias causadas por el virus sincitial respiratorio fluctúa desde la infección no manifiesta o el resfriado común hasta la neumonía en los lactantes y la bronquiolitis en los lactantes muy pequeños. La bronquiolitis es el síndrome clínico distintivo que se relaciona con este virus. Aproximadamente un tercio de las infecciones primarias por el virus sincitial respiratorio afectan al sistema respiratorio bajo con gravedad tal que necesitan atención médica. El niño puede presentar sibilancias. Casi 2% de los lactantes infectados necesitan hospitalización, lo cual da por resultado unas 51 000 a 82 000 hospitalizaciones cada año en Estados Unidos, con una frecuencia máxima a los dos meses de edad.

La evolución de los síntomas puede ser muy rápida y culminar en el deceso del paciente. Con la disponibilidad de los cuidados intensivos pediátricos modernos la tasa de mortalidad en los lactantes normales es baja (alrededor de 1% de los pacientes hospitalizados). Pero si una infección por el virus sincitial respiratorio se superpone a la enfermedad preexistente, como la cardiopatía congénita, la tasa de mortalidad puede ser elevada.

La reinfección es frecuente tanto en niños como en adultos. Aunque las reinfecciones tienden a ser sintomáticas, la enfermedad suele limitarse a las vías respiratorias altas y semejar al resfriado común en personas sanas.

Las infecciones por el virus sincitial respiratorio contribuyen a casi un tercio de las infecciones respiratorias en pacientes que reciben trasplante de médula ósea. La neumonía sobreviene en casi la mitad de los niños y adultos inmunodeficientes infectados, sobre todo si la infección se presenta en las primeras etapas del periodo subsiguiente al trasplante. Las tasas de mortalidad comunicadas fluctúan de 20 a 80%.

La infección en los ancianos puede causar síntomas similares a la enfermedad por el virus de la influenza. Puede presentarse neumonía. Los estimados de la prevalencia del virus sincitial respiratorio en los centros de asistencia a largo plazo comprenden tasas de infección de 5 a 10%, neumonía en 10 a 20% de los infectados y tasas de mortalidad de 2 a 5%.

Los niños que padecen bronquiolitis y neumonía por el virus sincitial respiratorio durante la lactancia a menudo manifiestan episodios recidivantes de enfermedad sibilante por muchos años. Sin embargo, no se ha demostrado ninguna relación causal entre las infecciones por el virus referido y las anomalías a largo plazo. Es posible que determinadas personas tengan rasgos fisiológicos subyacentes que las predispongan a las infecciones graves por el virus sincitial respiratorio y a las enfermedades respiratorias reactivas.

El virus sincitial respiratorio es una causa importante de otitis media. Se estima que 30 a 50% de los episodios que ocurren durante el invierno en los lactantes se deben a infección por tal partícula viral.

Inmunidad

Se piensa que las altas concentraciones de anticuerpo neutralizante que son transmitidas por la madre y que están presentes durante los primeros meses de vida son decisivas para la inmunidad protectora contra las enfermedades de las vías respiratorias bajas. La enfermedad sincitial respiratoria grave comienza a ocurrir en los lactantes de dos a cuatro meses de edad, cuando están descendiendo las concentraciones de anticuerpo en la madre. Sin embargo, la infección primaria y la reinfección pueden presentarse en la presencia de anticuerpos virales. El anticuerpo neutralizante en suero al parecer se correlaciona en alto grado con la inmunidad contra la enfermedad de las vías respiratorias bajas pero no de las vías respiratorias altas.

El virus sincitial respiratorio no es un inductor eficaz de interferón (en contraste con las infecciones por el virus de la influenza y la parainfluenza, en las cuales las concentraciones de interferón están elevadas y se correlacionan con la desaparición del virus).

Tanto los anticuerpos séricos como los secretores se elaboran en respuesta a la infección por el virus sincitial respiratorio. La infección primaria con un subgrupo induce a la formación de anticuerpos de reacción cruzada al virus del otro subgrupo (cuadro 40-2). Los lactantes más pequeños tienen respuestas de anticuerpo secretor IgA e IgG más bajas al virus sincitial respiratorio que los lactantes mayores. No está claro si la IgA en las secreciones nasales interviene en la prevención contra la reinfección. La inmunidad celular es importante en el restablecimiento tras la infección.

Se ha observado una interrelación entre el anticuerpo IgE específico del virus y la gravedad de la enfermedad. Los anticuerpos IgE secretores virales se han correlacionado con la presentación de bronquiolitis.

Es evidente que la inmunidad tiene eficacia sólo parcial y a menudo es superada bajo condiciones naturales; son frecuentes las reinfecciones, pero se mitiga la gravedad de la enfermedad que sobreviene.

Diagnóstico de laboratorio

El aislamiento del virus y la detección del RNA viral o del antígeno viral en las secreciones respiratorias constituyen los procedimientos de elección para diagnosticar la infección por el virus sincitial respiratorio. El virus sincitial respiratorio difiere de otros paramixovirus en que no tiene una hemaglutinina; por tanto, en los métodos diagnósticos no se pueden utilizar los análisis de hemaglutinación o hemadsorción.

A. Detección de antígeno

La identificación directa de antígenos virales en muestras clínicas es rápida y se necesitan sólo algunas horas. La inmunofluorescencia en células exfoliadas o ELISA en las secreciones nasofaríngeas suelen utilizarse. Un lavado nasal o un aspirado de secreciones nasales es una buena fuente para identificar el virus. Grandes cantidades de virus están presentes en los lavados nasales de niños pequeños (10^3 a 10^8 unidades formadoras de placa [PFU, *plaque forming units*] por mililitro), pero hay mucha menor cantidad en los especímenes de adulto (<100 PFU/ml). La detección de antígeno no es una prueba sensible en muchos adultos. Son útiles los estuches de ELISA para el diagnóstico rápido, lo cual es conveniente por disponerse del tratamiento antiviral.

B. Aislamiento e identificación del virus

Se puede aislar el virus sincitial respiratorio de las secreciones nasales. Es en extremo lábil. Se deben inocular muestras de inmediato en los cultivos celulares; el congelamiento de los especímenes clínicos puede dar por resultado una pérdida completa de la infecciosidad.

Los linajes de células heteroploides humanas HeLa y HEp-2 son los más sensibles para el aislamiento del virus. La presencia del virus sincitial respiratorio por lo general se reconoce por la aparición de células gigantes y sincitios en los cultivos inoculados (fig. 40-5). Pueden tardar hasta 10 días para que aparezcan los efectos citopáticos. El diagnóstico definitivo se puede establecer mediante la detección del antígeno viral en las células infectadas utilizando un antisuero definido y la prueba inmunofluorescente. Se puede lograr el aislamiento más rápido del virus sincitial respiratorio mediante la inoculación amplificada con centrífuga de ampollas que contienen cultivo de tejido que se multiplican en cubreobjetos. Mediante inmunofluorescencia o RT-PCR es posible examinar las células 24 a 48 h más tarde.

La detección del virus sincitial respiratorio es una prueba sólida de que la partícula interviene en una enfermedad activa, pero casi nunca se detecta en personas sanas.

C. Detección de ácido nucleico

Se dispone de análisis de RT-PCR para la detección del virus sincitial respiratorio en las secreciones respiratorias. La sensibilidad de estos análisis equivale o supera a la del cultivo celular. La prueba tarda alrededor de un día. Las pruebas de RT-PCR son muy útiles en muestras de adultos, en las cuales suele haber sólo pequeñas cantidades del virus. Tales análisis también son útiles para la subtipificación de cepas de virus sincitial respiratorio y para el análisis de la variación genética en los brotes epidémicos.

D. Análisis serológico

Se pueden analizar anticuerpos séricos de diversas formas: se utiliza inmunofluorescencia, ELISA y pruebas de NT. Las determinaciones de anticuerpos séricos son importantes para los estudios epidemiológicos pero sólo tienen una pequeña participación en la toma de decisiones clínicas.

Epidemiología

El virus sincitial respiratorio tiene una distribución en todo el mundo y se reconoce como el principal microorganismo patógeno de las vías respiratorias en los niños (fig. 40-6). Aproximadamente 70% de los lactantes están infectados hacia el año de edad y casi todos hacia los dos años. La bronquiolitis grave o la neumonía tienden a presentarse en los lactantes de seis semanas a seis meses de edad con una frecuencia máxima a los dos meses. Se puede aislar el virus de la mayoría de los lactantes menores de seis meses que padecen bronquiolitis, pero casi nunca se aísla en lactantes sanos. Las infecciones del subgrupo A al parecer producen enfermedad más grave que las infecciones del subgrupo B. El virus sincitial respiratorio es la causa más frecuente de neumonía viral en niños menores de cinco años de edad pero también producen neumonía en los ancianos o en las personas inmunodeficientes. La infección por el virus sincitial respiratorio en lactantes mayores y en niños da por resultado una infección del sistema respiratorio más leve que en aquellos menores de seis meses de edad.

Se disemina a través de las gotitas grandes y del contacto directo. Aunque el virus es muy lábil, puede sobrevivir en superficies ambientales hasta por 6 horas. La principal vía de entrada al hospedador la constituyen la nariz y los ojos.

La reinfección ocurre a menudo (pese a la presencia de anticuerpos específicos), pero los síntomas resultantes son los de una infección respiratoria superior leve (un resfriado común). En las familias con un caso identificado de infección sincitial respiratoria, es frecuente la diseminación del virus a los hermanos y a los adultos.

El virus sincitial respiratorio se disemina ampliamente en los niños cada año durante la estación de invierno. Aunque persiste durante los meses de verano, los brotes epidémicos tienden a alcanzar su máximo en febrero o en marzo en el hemisferio norte. En zonas tropicales, la epidemia puede coincidir con las estaciones lluviosas.

Produce infecciones intrahospitalarias en salas de recién nacidos y en salas de hospitalización pediátrica. La transmisión se presenta principalmente a través del personal hospitalario.

El virus sincitial respiratorio también es causa de enfermedad sintomática en adultos jóvenes sanos en condiciones de hacinamiento (reclutas militares en capacitación básica). En un estudio realizado en el año 2000 se identificó la partícula viral en 11% de los reclutas con síntomas respiratorios. Esto se comparó con la identificación de adenovirus (48%), virus de la influenza (11%) y virus de la parainfluenza 3 (3%) en reclutas sintomáticos.

Tratamiento y prevención

El tratamiento de las infecciones graves por el virus sincitial respiratorio depende principalmente de la asistencia de apoyo (p. ej., eliminación de las secreciones, administración de oxígeno). El fármaco antiviral ribavirina está autorizado para tratar las enfermedades respiratorias bajas debidas al virus referido, sobre todo en los lactantes con un riesgo elevado de enfermedad grave. El fármaco se administra en un aerosol durante tres a seis días. No es útil la ribavirina oral.

La inmunoglobulina con elevadas concentraciones de anticuerpos contra el virus sincitial respiratorio tiene una utilidad limitada. Se dispone de anticuerpos monoclonales antivirales humanizados.

Gran parte de los esfuerzos de investigación se han expandido para tratar de desarrollar una vacuna de virus sincitial respiratorio. A finales del decenio de 1960 se evaluó una vacuna experimental con la partícula viral inactivada con formalina. Los receptores presentaban altos títulos de anticuerpos séricos no neutralizantes, pero cuando los niños inmunizados presentaban una infección subsiguiente con el virus sincitial respiratorio de tipo silvestre, sufrían una enfermedad respiratoria baja notablemente más grave que los niños del grupo de control. Se ha señalado que el tratamiento con formalina destruyó los epítopos protectores en el virus o que debido a la falta de estimulación de los receptores de tipo peaje, la vacuna provocaba sólo anticuerpos de escasa avidez que no eran protectores. En la actualidad no se dispone de ninguna vacuna.

El virus sincitial respiratorio plantea problemas especiales para el desarrollo de una vacuna. El grupo elegido como objetivo, los recién nacidos, tendrían que inmunizarse poco después del nacimiento para obtener protección en el momento de máximo riesgo de infección grave por el virus sincitial respiratorio, y desencadenar una respuesta inmunitaria protectora en esta etapa temprana es difícil en la presencia de anticuerpos maternos. Una estrategia que se está evaluando es la inmunización materna con una vacuna. El objetivo es garantizar la transferencia de anticuerpo neutralizante específico del virus en concentraciones protectoras a los lactantes y que persista por tres a cinco meses, el periodo de máxima vulnerabilidad de recién nacidos a las infecciones graves por el virus sincitial respiratorio.

Las medidas de control necesarias cuando ocurren los brotes epidémicos intrahospitalarios son las mismas que las descritas antes para los virus de la parainfluenza (aislamiento de contactos, lavado de manos y restricción de visitantes).

INFECCIONES POR METANEUMOVIRUS HUMANOS

Los metaneumovirus humanos constituyen un microorganismo patógeno respiratorio descrito por primera vez en 2001 (cuadro 40-2). Se detectó utilizando un método molecular (reacción en cadena de la polimerasa) en muestras clínicas de niños con enfermedades respiratorias pero con resultados negativos en las pruebas virales. Al parecer está muy generalizado, con una seroprevalencia del 100% en adultos jóvenes y en personas mayores. El metaneumovirus humano puede causar una amplia gama de enfermedades respiratorias, desde los síntomas respiratorios altos leves, hasta las infecciones respiratorias bajas graves. En general, los síntomas son similares a los causados por el virus sincitial respiratorio.

Al parecer las infecciones por metaneumovirus humanos en niños pequeños son menos frecuentes que con el virus sincitial respiratorio, pero más frecuentes que con los virus de la parainfluenza (fig. 40-6). En un estudio de vigilancia de 25 años en Estados Unidos (1976-2001) en el que participaron más de 2 000 niños, de recién nacidos hasta los cinco años de edad, 20% de los especímenes de lavados nasales almacenados de pequeños con infecciones respiratorias bajas y previamente negativos para los virus en el cultivo resultaron con positividad para metaneumovirus humano en la prueba de reacción en cadena de la polimerasa. La mayor parte de las infecciones se presentó entre diciembre y abril.

El metaneumovirus humano también produce enfermedad respiratoria en adultos con neoplasias malignas hematológicas y que viven en residencias para ancianos.

INFECCIONES POR VIRUS DE LA PAROTIDITIS

La parotiditis es una enfermedad contagiosa aguda que se caracteriza por el crecimiento no purulento de una o de las dos glándulas salivales. El virus de la parotiditis produce en su mayor parte una enfermedad infantil leve, pero en los adultos son muy frecuentes las complicaciones como la meningitis y la orquitis. Más de un tercio de todas las infecciones por parotiditis son asintomáticas.

Patogenia y anatomía patológica

Los seres humanos son los únicos hospedadores naturales de los virus de la parotiditis. La replicación primaria ocurre en las células epiteliales de la cavidad nasal o de las vías respiratorias altas. La viremia disemina luego el virus a las glándulas salivales y a otros órganos y sistemas importantes. La afectación de la glándula parótida no es un paso obligatorio en el proceso infeccioso.

El periodo de incubación puede fluctuar de dos a cuatro semanas pero suele ser de casi 14 a 18 días. El virus es eliminado en la saliva desde casi tres días antes hasta nueve días después del inicio del edema de las glándulas salivales. Alrededor de un tercio de las personas infectadas no muestran síntomas evidentes (infecciones no manifiestas) pero tienen la misma capacidad para transmitir la infección. Es difícil controlar la transmisión de la parotiditis debido a los periodos de incubación variables, la presencia del virus en la saliva antes que se presenten los síntomas clínicos y el gran número de casos asintomáticos pero infecciosos.

La parotiditis es una enfermedad viral sistémica con una propensión a replicarse en las células epiteliales en diversos órganos viscerales. El virus a menudo infecta a los riñones y se puede detectar en la orina de la mayoría de los pacientes. La viruria persiste hasta por 14 días después que comienzan los síntomas clínicos. El sistema nervioso central también suele infectarse y puede estar afectado aun cuando no haya parotiditis.

Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas de la parotiditis reflejan la patogenia de la infección. Por lo menos un tercio de todos los casos de parotiditis son asintomáticos, lo que comprende casi todas las infecciones en los niños menores de dos años de edad. El signo más característico de los casos sintomáticos es el edema de las glándulas salivales, que ocurre en casi 50% de los pacientes.

Un periodo prodrómico de malestar y anorexia se acompaña del crecimiento rápido de las glándulas parótidas y también de otras glándulas salivales. El edema puede estar circunscrito a una glándula parótida o una glándula puede crecer varios días antes que la otra. El crecimiento de la glándula se acompaña de dolor.

La afectación del sistema nervioso central es frecuente (10 a 30% de los casos). La parotiditis produce meningitis aséptica y es más frecuente en los varones que en las mujeres. La meningoencefalitis suele presentarse cinco a siete días después de la inflamación de las glándulas salivales pero hasta la mitad de los pacientes no tendrán signos clínicos de parotiditis. Se comunica la meningitis hasta en un 15% de los casos y la encefalitis en menos de 0.3%. Los casos de meningitis por parotiditis y de meningoencefalitis suelen resolverse sin secuelas, aunque la sordera unilateral se presenta en casi 5:100 000 casos. La tasa de mortalidad debida a encefalitis por parotiditis es de casi 1%.

Los testículos y los ovarios pueden estar afectados, sobre todo después de la pubertad. Veinte a 50% de los varones infectados con el virus de la parotiditis presentan orquitis (a menudo unilateral). Dada la falta de elasticidad de la túnica albugínea, que no permite la hinchazón del testículo inflamado, la complicación es en extremo dolorosa. La atrofia del testículo puede ocurrir como resultado de la necrosis por presión, pero raras veces se produce esterilidad. La ovaritis por parotiditis se presenta en casi 5% de las mujeres. Se ha informado la pancreatitis en casi 4% de los casos.

Inmunidad

La inmunidad es permanente después de una sola infección. Sólo hay un tipo antigénico de virus de la parotiditis y no muestra una variación antigénica notable (cuadro 40-2).

Después de la infección natural se presentan en el suero anticuerpos contra la glucoproteína HN (antígeno V), la glucoproteína F y la proteína interna de la nucleocápside NP (antígeno S). Los anticuerpos al antígeno S son los primeros en aparecer (tres a siete días después que comienzan los síntomas) pero son transitorios y por lo general desaparecen al cabo de seis meses. Los anticuerpos al antígeno V se presentan con más lentitud (aproximadamente cuatro semanas después del inicio) pero persisten por años.

Los anticuerpos contra el antígeno HN se correlacionan bien con la inmunidad. Se piensa que incluso las infecciones asintomáticas generan inmunidad de por vida. También se produce una respuesta inmunitaria mediada por las células. Se activa el interferón en una etapa temprana de la parotiditis. En personas inmunes, los anticuerpos IgA secretados en la nasofaringe manifiestan una actividad neutralizante.

La inmunidad pasiva es transferida de la madre a la descendencia; por consiguiente, es infrecuente ver parotiditis en lactantes menores de seis meses de edad.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico de los casos típicos suele establecerse basándose en las manifestaciones clínicas. Sin embargo, otros agentes infecciosos, fármacos y trastornos pueden causar síntomas similares. En los casos en que no hay parotiditis, el laboratorio es útil para establecer el diagnóstico. Las pruebas comprenden el aislamiento del virus infeccioso, la detección del ácido nucleico viral mediante RT-PCR y diagnóstico serológico.

A. Aislamiento e identificación del virus

Las muestras clínicas más apropiadas para el aislamiento viral son saliva, líquido cefalorraquídeo y orina obtenidas a los pocos días de comenzada la enfermedad. Se puede aislar el virus de la orina hasta por dos semanas.

Se prefieren las células de riñón de mono para el aislamiento del virus. Las muestras se deben inocular poco después que se obtienen, ya que el virus de la parotiditis es termolábil. Para un

diagnóstico rápido, la inmunofluorescencia utilizando antisuero específico de parotiditis puede detectar antígenos del virus de la parotiditis ya desde los dos a tres días después de la inoculación en cultivos celulares mediante el método de centrifugación y cultivo.

En los sistemas de cultivo tradicionales, los efectos citopáticos característicos del virus de la parotiditis consisten en redondeamiento de las células y formación de células gigantes. Puesto que no todas las cepas primarias muestran la formación sincitial característica, se puede utilizar la prueba de hemadsorción para demostrar la presencia del hemadsorbente una y dos semanas después de la inoculación. Se puede confirmar una cepa como el virus de la parotiditis mediante la inhibición de la hemadsorción utilizando antisuero específico de la parotiditis.

B. Detección de ácido nucleico

La RT-PCR es un método muy sensible que permite detectar secuencias de genoma de la parotiditis en muestras clínicas. Ayuda a detectar el virus en muchas muestras clínicas que son negativas en los intentos para aislar el virus. Los análisis mediante RT-PCR permiten identificar cepas de virus y proporcionan información útil en los estudios epidemiológicos.

C. Diagnóstico serológico

La detección simple del anticuerpo de la parotiditis no es adecuada para diagnosticar una infección. Más bien puede ser demostrada una elevación de anticuerpo utilizando sueros pares: un incremento de cuatro tantos o más en el título de anticuerpo es signo de infección por parotiditis. Suele utilizarse la prueba de ELISA o HI. Los anticuerpos contra la proteína HN son neutralizantes.

Se puede diseñar ELISA para detectar anticuerpos IgM o IgG específicos de la parotiditis. La IgM de la parotiditis invariablemente se presenta en las primeras etapas de la enfermedad y pocas veces persiste por más de 60 días. Por tanto, la demostración de la IgM específica de la parotiditis en suero obtenido en las primeras etapas de la enfermedad es muy sugestiva de una infección reciente. Los anticuerpos heterotípicos provocados por las infecciones por el virus de la parainfluenza no reaccionan en forma cruzada en la prueba de ELISA para IgM de la parotiditis.

Epidemiología

La parotiditis es endémica en todo el mundo. Aparecen casos durante todo el año en los climas calientes y alcanzan su máximo en el invierno y la primavera en los climas templados. Los brotes epidémicos se presentan cuando el hacinamiento favorece la diseminación del virus. La parotiditis es sobre todo una infección de los niños. La enfermedad alcanza su máxima incidencia en los niños de cinco a nueve años de edad, pero pueden presentarse epidemias en los campos de la armada. En los niños menores de cinco años de edad, las paperas suelen causar infección respiratoria alta sin parotiditis.

La parotiditis es muy contagiosa, la mayoría de las personas susceptibles en un domicilio adquirirán la infección de un miembro infectado. El virus es transmitido por contacto directo, gotitas transmitidas en el aire o fómites contaminados con saliva u orina. El contacto más cercano es necesario para la transmisión de la parotiditis que para la transmisión del sarampión o la varicela.

Aproximadamente un tercio de las infecciones por el virus de la parotiditis no son manifiestas. Durante la evolución de la infección asintomática, el paciente puede transmitir el virus a otras personas. Los individuos con parotiditis asintomática adquieren la inmunidad.

La tasa de mortalidad global para la parotiditis es baja (un deceso por 10 000 casos en Estados Unidos), lo cual se debe principalmente a encefalitis.

La frecuencia de parotiditis y complicaciones concomitantes ha disminuido notablemente desde el advenimiento de la vacuna de virus vivos. En 1967, el año en que se autorizó la vacuna de la parotiditis, había unos 200 000 casos de parotiditis (y 900 pacientes con encefalitis) en Estados Unidos. De 2001 a 2003 hubo menos de 300 casos de parotiditis cada año.

En 2006 hubo un brote de parotiditis en Estados Unidos que dio por resultado más de 5 700 casos. Seis estados en el occidente medio notificaron 84% de los casos. El brote epidémico comenzó en un campo universitario en adultos jóvenes y se propagó a todos los grupos de edad. El brote epidémico probablemente se diseminó a causa de las condiciones de vivienda cercana en los campos universitarios y la acumulación de personas susceptibles que no se inmunizaron satisfactoriamente.

Tratamiento, prevención y control

No se dispone de ningún tratamiento específico.

La inmunización con el virus de la parotiditis vivo atenuado es el mejor método para reducir las tasas de morbilidad y mortalidad por parotiditis. Los esfuerzos por minimizar la diseminación del virus durante un brote epidémico a través de procedimientos de aislamiento, son fútiles dada la elevada frecuencia de casos asintomáticos y el grado de eliminación del virus antes que aparezcan los síntomas clínicos; sin embargo, los estudiantes y el profesional sanitario que adquieren la parotiditis deben ser retirados de la escuela y del trabajo hasta cinco días después que comienza la parotiditis.

En 1967 se autorizó en Estados Unidos una vacuna de virus vivos atenuados eficaz elaborada en cultivo de células de embrión de pollo. Produce una infección asintomática no transmisible. La vacuna de la parotiditis está disponible en combinación con las vacunas de virus vivos del sarampión y la rubéola (MMR). Las vacunas combinadas de virus vivos producen anticuerpos contra cada uno de los virus en casi 78 a 95% de las vacunas. No hay un incremento del riesgo de meningitis aséptica después de la vacunación con virus vivos del sarampión y la rubéola. En Japón, Rusia y Suiza se han desarrollado otras vacunas de virus vivos atenuados de la parotiditis.

Se recomiendan dos dosis de la vacuna de MMR para el ingreso escolar. Dado el brote de parotiditis en 2006, las recomendaciones de vacunación actualizada para la prevención de la transmisión de la parotiditis en ámbitos de alto riesgo para la propagación de la infección fueron dadas a conocer. Se deben administrar dos dosis de vacuna al personal sanitario nacido antes de 1957 que no tenga indicios de inmunidad contra la parotiditis, y se ha de considerar una segunda dosis de la vacuna para quienes hayan recibido una sola dosis.

INFECCIÓN POR EL VIRUS DEL SARAMPIÓN

El sarampión es una enfermedad aguda muy contagiosa caracterizada por fiebre, síntomas respiratorios y un exantema macu-

lopapuloso. Las complicaciones son frecuentes y pueden ser muy graves. La introducción de una vacuna de virus vivos eficaz ha reducido drásticamente la frecuencia de esta enfermedad en Estados Unidos, pero el sarampión sigue siendo una causa principal de muerte en niños pequeños en muchos países en vías de desarrollo.

Patogenia y anatomía patológica

El ser humano es el único hospedador natural del virus del sarampión, aunque se pueden infectar en condiciones experimentales otras múltiples especies, como monos, perros y ratones. En la figura 40-7 se muestra la evolución natural de la infección del sarampión.

El virus logra acceso al cuerpo humano a través del sistema respiratorio, donde se multiplica en los tejidos locales; la infección se propaga luego al tejido linfoide regional donde ocurre una multiplicación adicional. La viremia primaria disemina el virus el cual luego se replica en el sistema reticuloendotelial. Por último, una segunda viremia siembra las superficies epiteliales del cuerpo, lo que comprende piel, sistema respiratorio y conjuntiva, donde ocurre la replicación focal. El sarampión se puede replicar en determinados linfocitos, lo cual ayuda a la diseminación por todo el cuerpo. Las células gigantes multinucleadas con inclusiones intranucleares se observan en los tejidos linfoides de todo el organismo (ganglios linfáticos, amígdalas, apéndice). Los fenómenos descritos se presentan durante el periodo de incubación, el cual suele durar ocho a 12 días pero puede persistir hasta por tres semanas en los adultos.

Durante la fase prodrómica (dos a cuatro días) y los primeros dos a cinco días del exantema, el virus está presente en lágrimas, secreciones nasales y faríngeas, orina y sangre. El exantema maculopapuloso característico aparece alrededor del día 14, precisamente cuando comienzan a ser detectables los anticuerpos circulantes, desaparece la viremia y desciende la fiebre. El exantema sobreviene a consecuencia de la interacción de los linfocitos T inmunes con las células infectadas por el virus en los vasos sanguíneos pequeños y dura alrededor de una semana. (En los pacientes con inmunidad defectuosa mediada por células, no sobreviene ningún exantema.)

La afección del sistema nervioso central es frecuente en el sarampión (fig. 40-8). Se presenta una encefalitis sintomática en casi 1:1 000 casos. Puesto que el virus infeccioso pocas veces se aísla del cerebro, se ha señalado que una reacción autoinmunitaria es el mecanismo que interviene en esta complicación. En cambio, la encefalitis progresiva por cuerpo de inclusión del sarampión puede presentarse en los pacientes con inmunidad celular defectuosa. El virus con replicación activa está presente en el cerebro en esta forma de la enfermedad por lo general mortal.

Una complicación tardía infrecuente del sarampión es la panencefalitis esclerosante subaguda (SSPE, *subacute sclerosing panencephalitis*). Esta enfermedad mortal se presenta años después de la infección por el sarampión inicial y es causada por el virus que permanece en el cuerpo después de la infección aguda. Grandes cantidades de antígenos del sarampión están presentes en los cuerpos de inclusión en las células cerebrales infectadas, pero sólo algunas partículas virales maduran. La replicación viral es defectuosa debido a la falta de producción de uno o más productos génicos virales, a menudo la proteína de la matriz.

Manifestaciones clínicas

Las infecciones en los hospedadores no inmunes casi siempre son sintomáticas. Tras un periodo de incubación de ocho a 12 días,

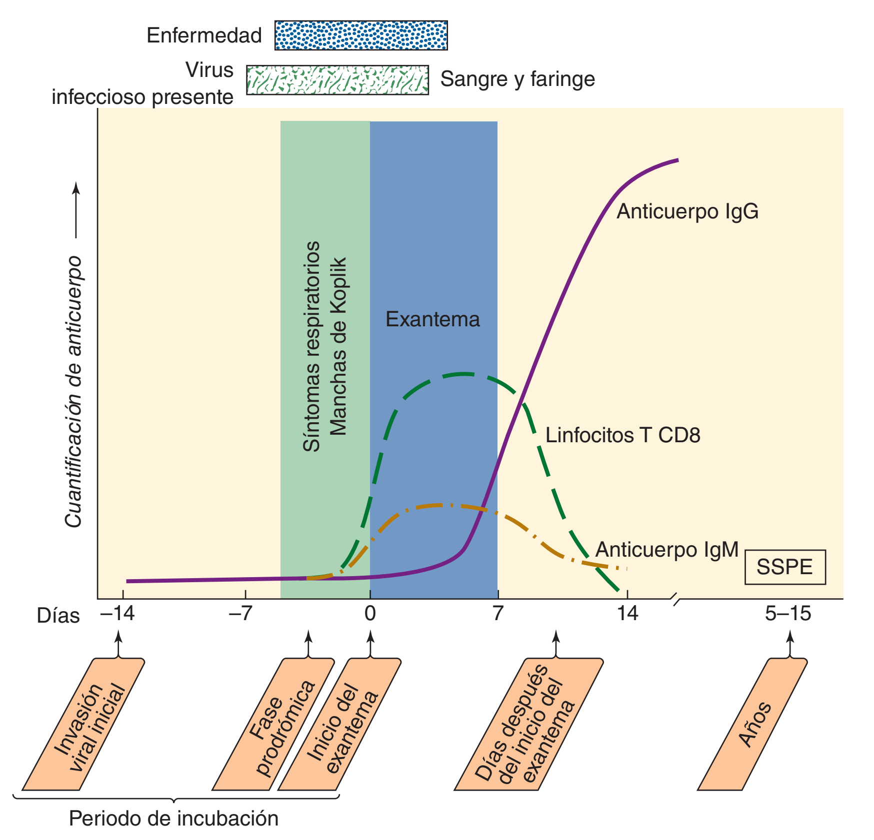


FIGURA 40-7 Evolución natural de la infección por el virus del sarampión. La replicación viral comienza en el epitelio respiratorio y se disemina a monocitos-macrófagos, células endoteliales y células epiteliales en sangre, bazo, ganglios linfáticos, pulmón, timo, hígado y piel y a las superficies mucosas de los sistemas digestivo, respiratorio y genitourinario. La respuesta inmunitaria específica contra el virus es detectable cuando aparece el exantema. La eliminación del virus coincide aproximadamente con la desaparición del exantema. (SSPE, panencefalitis esclerosante subaguda.)

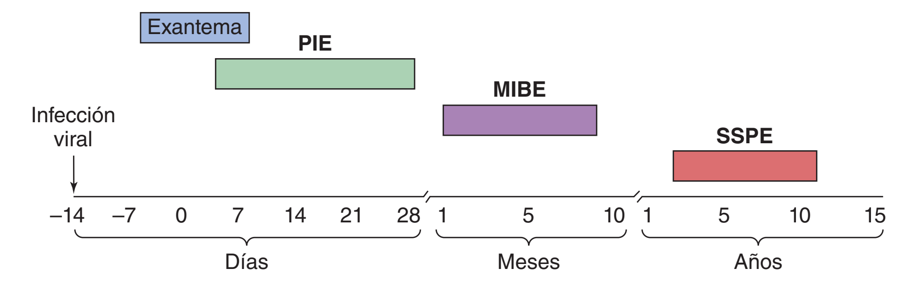


FIGURA 40-8 Periodos de complicaciones neurológicas del sarampión. PIE, encefalomielitis posinfecciosa (también denominada encefalomielitis diseminada aguda); MIBE, encefalitis por cuerpo de inclusión del sarampión; SSPE, panencefalitis esclerosante subaguda. La encefalitis ocurre en casi uno de cada 1 000 casos de sarampión, en tanto que la SSPE es una complicación tardía rara que se presenta en casi uno de cada 300 000 casos. (Adaptada con autorización de Griffin DE, Bellini WJ: Measles virus. En: *Fields Virology,* 3rd ed. Fields BN et al [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

el sarampión suele ser una enfermedad de siete a 11 días (con una fase prodrómica de dos a cuatro días seguida de una fase eruptiva de cinco a ocho días).

La fase prodrómica se caracteriza por fiebre, estornudos, tos, rinorrea, hiperemia conjuntival, manchas de Koplik y linfopenia. La tos y la coriza reflejan una reacción inflamatoria intensa que afecta a la mucosa del sistema respiratorio. La conjuntivitis suele acompañarse de fotofobia. Las manchas de Koplik (patognomónicas del sarampión) son pequeñas ulceraciones de color blanco azulado en la mucosa bucal opuesta a los molares inferiores. Estas manchas contienen células gigantes y antígenos virales y aparecen unos dos días después del exantema. La fiebre y la tos persisten hasta que el exantema aparece y luego desaparecen al cabo de uno a dos días. El exantema, que comienza en la cabeza y luego se propaga en forma progresiva al tórax, el tronco y por las extremidades, aparece como maculopápulas de color de rosa claro, bien circunscritas, que experimentan coalescencia para formar ronchas, las cuales se vuelven parduscas en un lapso de cinco a 10 días. El exantema que desvanece se resuelve con descamación. Los síntomas son más intensos cuando el exantema alcanza su máxima expresión, pero ceden rápidamente poco después.

El sarampión modificado ocurre en personas parcialmente inmunes, como los lactantes con anticuerpo materno residual. El periodo de incubación es prolongado, los síntomas prodrómicos están reducidos, las manchas de Koplik no suelen presentarse y el exantema es leve.

La complicación más frecuente del sarampión es la otitis media (5 a 9% de los casos).

La neumonía es la complicación letal más frecuente del sarampión, causada por infecciones bacterianas secundarias. Esto ocurre en menos de 10% de los casos en los países desarrollados pero es mucho más frecuente (20 a 80%) en los países en vías de desarrollo. Las complicaciones pulmonares constituyen más de 90% de los decesos relacionados con el sarampión. La neumonía sobreviene en 3 a 15% de los adultos con sarampión, pero la mayor parte de los casos se deben al propio virus más que a bacterias. Son infrecuentes los decesos.

La neumonía de células gigantes es una complicación importante en los niños y en los adultos con deficiencia de la inmunidad mediada por células. Se piensa que se debe a una replicación viral irrestricta y tiene una alta tasa de mortalidad.

Las complicaciones que afectan al sistema nervioso central son las más graves. Alrededor del 50% de los niños con sarampión regular muestran cambios electroencefalográficos. La encefalitis aguda se presenta en casi 1:1 000 casos. No existe ninguna correlación evidente entre la gravedad del sarampión y la aparición de las complicaciones neurológicas. La encefalomielitis posinfecciosa (encefalitis diseminada aguda) es una enfermedad autoinmunitaria asociada a una respuesta inmunitaria a la proteína básica de mielina. La tasa de mortalidad en la encefalitis relacionada con el sarampión es de casi 10 a 20%. La mayoría de los sobrevivientes tienen secuelas neurológicas.

La **panencefalitis esclerosante subaguda**, la complicación tardía infrecuente de la infección por sarampión, tiene una incidencia de casi 1:300 000 casos. La enfermedad comienza de manera insidiosa cinco a 15 años después de un caso de sarampión; se caracteriza por deterioro mental progresivo, movimientos involuntarios, rigidez muscular y estado de coma. Suele ser mortal al cabo de uno a tres años después del inicio. Los pacientes con SSPE muestran cuantificaciones elevadas de anticuerpo del sarampión en el líquido cefalorraquídeo y virus del sarampión defectuoso en las células del cerebro. Con el empleo generalizado de la vacuna del sarampión, se ha vuelto menos frecuente la panencefalitis esclerosante subaguda.

Inmunidad

Sólo hay un tipo antigénico del virus del sarampión (cuadro 40-2). La infección confiere inmunidad de por vida. La mayor parte de los llamados segundos ataques representan errores de diagnóstico, sea de la inicial o de la segunda enfermedades.

La presentación de anticuerpos humorales indica inmunidad. Sin embargo, la inmunidad celular al parecer es esencial para el restablecimiento y la protección: los pacientes con deficiencias de inmunoglobulinas se restablecen del sarampión y adquieren resistencia a la reinfección, en tanto que los pacientes con deficiencias inmunitarias celulares tienen una evolución muy deficiente cuando adquieren las infecciones del sarampión. La participación de la inmunidad de la mucosa en la resistencia a las infecciones no está clara.

Las respuestas inmunitarias del sarampión intervienen en la patogenia de la enfermedad. La inflamación local produce los síntomas prodrómicos y la inmunidad específica mediada por células participa en la aparición del exantema.

La infección por el sarampión produce una supresión inmunitaria (muy importante en la porción mediada por células del sistema inmunitario, pero se observa que afecta a todos los componentes). Esta es la causa de las infecciones secundarias graves y puede persistir por meses después de la infección por el sarampión.

Diagnóstico de laboratorio

El sarampión característico se diagnostica de manera fiable basándose en los datos clínicos; el diagnóstico de laboratorio puede ser necesario en los casos de sarampión modificados o atípicos.

A. Detección de antígeno y ácido nucleico

Los antígenos de sarampión pueden detectarse directamente en células epiteliales de secreciones respiratorias, la nasofaríngea, conjuntivas y orina. Los anticuerpos contra la nucleoproteína son útiles porque es la proteína viral más abundante en las células infectadas.

La detección de RNA viral mediante RT-PCR es un método sensible que se puede aplicar a diversas muestras clínicas para el diagnóstico del sarampión.

B. Aislamiento e identificación del virus

Los frotis de secreciones nasofaríngeas y conjuntivales, las muestras de sangre, las secreciones respiratorias y la orina obtenidas de un paciente durante el periodo febril, son fuentes apropiadas para el aislamiento del virus. Las células de riñón de mono o persona o un linaje de células linfoblastoides (DP95-A), son óptimas para los intentos de aislamiento. El virus del sarampión crece con lentitud; los efectos citopáticos característicos (células gigantes multinucleadas que contienen cuerpos de inclusión intranuclear e intracitoplásmica) tardan siete a 10 días en desarrollarse (fig. 40-5). Las pruebas mediante el método de centrifugación y cultivo pueden finalizarse en dos a tres días utilizando la tinción de anticuerpo fluorescente para detectar antígenos de sarampión en los cultivos inoculados. Sin embargo, el aislamiento del virus es técnicamente difícil.

C. Diagnóstico serológico

La confirmación serológica de la infección por el sarampión depende de un incremento de cuatro tantos en el título de anticuerpos entre los sueros de fase aguda y de fase convaleciente o de la demostración de anticuerpo de IgM específico de sarampión en una sola muestra de suero obtenida entre una y dos semanas después del inicio del exantema. Las pruebas ELISA, HI y Nt se pueden utilizar para determinar anticuerpos del sarampión, aunque ELISA es el método más práctico.

Las manchas de sangre desecada y los líquidos orales al parecer son útiles alternativas al suero para la detección de anticuerpo del sarampión en zonas donde es difícil la obtención y manejo de muestras de suero.

La mayor parte de la respuesta inmunitaria está dirigida contra la nucleoproteína viral. Los pacientes con SSPE muestran una respuesta de anticuerpo exagerada con títulos de 10 a 100 tantos más elevados que los observados en los sueros de etapa convaleciente típica.

Epidemiología

Las características epidemiológicas clave del sarampión son: elevada contagiosidad del virus, existencia de un solo serotipo, no hay un reservorio animal, las infecciones asintomáticas son infrecuentes y la infección confiere una inmunidad de por vida. La prevalencia y la incidencia del sarampión por edades están relacionadas con la densidad de la población con factores económicos y ambientales y el empleo de una vacuna de virus vivos eficaz.

La transmisión ocurre predominantemente a través de la vía respiratoria (por la inhalación de grandes gotitas de secreciones infectadas). Los fómites al parecer no participan de manera importante en la transmisión. La transmisión transplacentaria hematógena puede ocurrir cuando el sarampión se presenta durante el embarazo.

Un suministro continuado de individuos susceptibles es necesario para que el virus persista en una población. Se necesita una población que se acerque a los 500 000 individuos para mantener el sarampión como una enfermedad endémica; en las poblaciones más pequeñas, el virus desaparece hasta que es reintroducido desde el exterior después que se acumula un número crítico de personas no inmunes.

El sarampión es endémico en todo el mundo. En general, las epidemias experimentan recidiva con regularidad cada dos a tres años. Un estado de inmunidad de la población es el factor determinante; la enfermedad se exacerbará cuando haya una acumulación de niños susceptibles. La gravedad de una epidemia depende del número de individuos susceptibles. Cuando se introduce la enfermedad en poblaciones aisladas donde no ha sido endémica, una epidemia se produce con rapidez y las tasas de ataque son de casi 100%. Todos los grupos de edad desarrollan sarampión clínico y la tasa de mortalidad puede ser de hasta 25 por ciento.

En los países industrializados, el sarampión ocurre en niños de cinco a 10 años de edad, en tanto que en los países en vías de desarrollo suelen infectarse los niños menores de cinco años. El sarampión pocas veces produce la muerte en personas sanas de países desarrollados; sin embargo, en los niños desnutridos en países en vías de desarrollo, donde no se dispone de atención médica adecuada, es una causa principal de mortalidad en los lactantes. La Organización Mundial de la Salud estimó en 2005 que había 30 a 40 millones de casos de sarampión y 530 000 decesos cada año en todo el mundo. El sarampión es la quinta causa global principal de mortalidad en niños menores de cinco años de edad y las muertes por sarampión ocurren en forma desproporcionada en África y el sureste de Asia.

La Organización Mundial de la Salud y el Fondo Internacional de Urgencias para Niños de las Naciones Unidas (UNICEF) establecieron un plan en 2005 para reducir la mortalidad del sarampión a través de actividades de inmunización y mejor atención clínica de los casos. Se estima que entre 2000 y 2007 el número de casos de sarampión y de muertes por sarampión se redujo en más de dos tercios.

Los casos de sarampión ocurren durante todo el año en climas templados. Las epidemias tienden a presentarse a finales del invierno y a principios de la primavera.

En Estados Unidos hubo 540 casos de sarampión de 1997 a 2001, de los cuales un 67% estuvieron vinculados con importaciones (personas infectadas fuera de los Estados Unidos). Durante un periodo de ocho años (1996-2004), 117 pasajeros con casos de sarampión importados se consideraron infecciosos mientras viajaban en naves aéreas. Pese a la índole tan infecciosa del virus, sólo se identificaron cuatro casos de propagación secundaria.

En Estados Unidos se presentaron 131 casos de sarampión en 2008. Sólo 17 eran de importaciones, los otros casos ocurrieron en gran parte en niños de edad escolar no vacunados. Para mantener eliminada la transmisión del sarampión, las tasas de protección con la vacuna deben superar 90 por ciento.

Tratamiento, prevención y control

El tratamiento con vitamina A en los países en vías de desarrollo ha disminuido la mortalidad y la morbilidad. El virus del sarampión es susceptible *in vitro* a la inhibición por la ribavirina, pero no se han demostrado los beneficios clínicos.

Desde 1963 se ha contado con una vacuna del virus vivo del sarampión atenuado que es muy eficaz y tolerable. Está disponible en formas monovalente y combinada con la vacuna de la rubéola de virus vivos atenuados (MR), vacuna de la rubéola de virus vivos atenuados y del sarampión (MMR) y vacuna de la varicela de virus vivos atenuados (MMRV). Sin embargo, puesto que no se vacuna a los niños y dados los casos infrecuentes de ineficacia de la vacuna, no se ha eliminado el sarampión. La vacuna ha reducido el sarampión nativo en Estados Unidos desde cifras previas a la vacuna de más de 500 000 casos cada año, a sólo 37 casos en 2004.

Las reacciones clínicas leves (fiebre o exantema leve) se presentarán en 2 a 5% de los vacunados, pero no hay expresión del virus o ésta es escasa y no hay ninguna transmisión. La inmunosupresión ocurre al igual que con el sarampión, pero es transitoria y no tiene importancia clínica. Los títulos de anticuerpos tienden a ser menores que después de la infección natural, pero los estudios han demostrado que los anticuerpos activados por la vacuna persisten hasta por 33 años, lo que indica que la inmunidad probablemente es de por vida.

Se recomienda que todos los niños, personal sanitario y viajeros internacionales sean vacunados. Las contraindicaciones para la vacunación comprenden embarazo, alergia a los huevos o a la neomicina, alteraciones inmunitarias (excepto las debidas a infección por el virus de la inmunodeficiencia humana) y la administración reciente de inmunoglobulina.

El empleo de la vacuna del virus del sarampión muerto se suspendió en 1970, ya que algunas personas vacunadas se sensibilizaron y presentaron sarampión atípico grave cuando se infectaron con el virus silvestre.

La cuarentena no es eficaz como una medida de control, ya que la transmisión del sarampión ocurre durante la fase prodrómica.

INFECCIONES POR VIRUS HENDRA Y VIRUS NIPAH

Los paramixovirus zoonóticos que representan un nuevo género (*Henipavirus*) fueron reconocidos a finales del decenio de 1990 en brotes epidémicos de la enfermedad en Oceanía (cuadro 40-2). Un brote epidémico de encefalitis grave en Malasia en 1998 y 1999 fue causado por el virus de Nipah. Hubo una alta tasa de mortalidad (>35%) entre más de 250 casos; algunos sobrevivientes tenían disfunciones neurológicas persistentes. Al parecer las infecciones fueron causadas por la transmisión viral directa de cerdos a seres humanos. Algunos pacientes (<10%) pueden presentar encefalitis de instauración tardía meses a varios años después de la infección inicial por el virus de Nipah. El virus de Hendra, un virus equino, ha causado muchos decesos de caballos y algunas muertes humanas en Australia.

Los murciélagos de la fruta son los hospedadores naturales de los virus de Nipah y de Hendra. Los cambios ecológicos, incluido el uso de la tierra y las prácticas de ganadería, tal vez son la causa del surgimiento de estas dos enfermedades infecciosas.

Los dos virus constituyen un problema de salud pública debido a su elevada mortalidad, amplia gama de hospedadores y la capacidad para saltarse de barreras de especie. Son clasificados como microorganismos patógenos de bioseguridad de nivel 4. No se dispone de vacunas.

INFECCIONES POR EL VIRUS DE LA RUBÉOLA

La rubéola es una enfermedad febril aguda que se caracteriza por un exantema y linfadenopatía que afecta a los niños y a los adultos jóvenes. Es el más leve de los exantemas virales frecuentes. Sin embargo, la infección durante las primeras etapas del embarazo puede producir anomalías importantes del feto, lo que comprende malformaciones congénitas y retraso mental. Las consecuencias de la rubéola *in utero* se designan como el síndrome de rubéola congénita.

Clasificación

El virus de la rubéola, un miembro de la familia **Togaviridae**, es el único miembro del género *Rubivirus*. Aunque sus características morfológicas y propiedades fisicoquímicas lo ubican en el grupo de los togavirus, la rubéola no es transmitida por artrópodos. En el capítulo 38 se describe la estructura y la replicación del togavirus.

Hay una diversidad de secuencia notable entre las cepas de virus de la rubéola. Actualmente se clasifican en dos grupos lejanamente relacionados y nueve genotipos.

Por claridad en la presentación se describen por separado la rubéola posnatal y la rubéola congénita.

RUBÉOLA POSNATAL

Patogenia y anatomía patológica

Las infecciones neonatales, infantiles y del adulto se presentan en toda la mucosa de las vías respiratorias altas. La rubéola tiene un periodo de incubación de casi 12 días o más. La replicación viral inicial probablemente ocurre en el sistema respiratorio, seguida de la multiplicación en los ganglios linfáticos cervicales. La viremia sobreviene después de siete a nueve días y persiste hasta la aparición de anticuerpo alrededor de los días 13 a 15. La aparición de anticuerpo coincide con la aparición del exantema, lo que indica una causa inmunitaria del exantema. Después que aparece el exantema, el virus se mantiene detectable sólo en la nasofaringe, donde puede persistir durante varias semanas (fig. 40-9). En 20 a 50% de los casos, la infección primaria es asintomática.

Manifestaciones clínicas

La rubéola suele comenzar con malestar, febrícula y un exantema morbiliforme que aparece el mismo día. El exantema comienza en la cara, se extiende sobre el tronco y las extremidades y pocas veces persiste por más de tres días. Ninguna característica del exantema es patognomónica de la rubéola. A menos que ocurra una epidemia, la enfermedad es difícil de diagnosticar clínicamente, pues el exantema causado por otros virus (p. ej., enterovirus) es similar.

La artralgia y la artritis transitorias suelen observarse en los adultos, sobre todo en las mujeres. Pese a determinadas similitudes, la artritis por la rubéola no tiene una relación etiológica

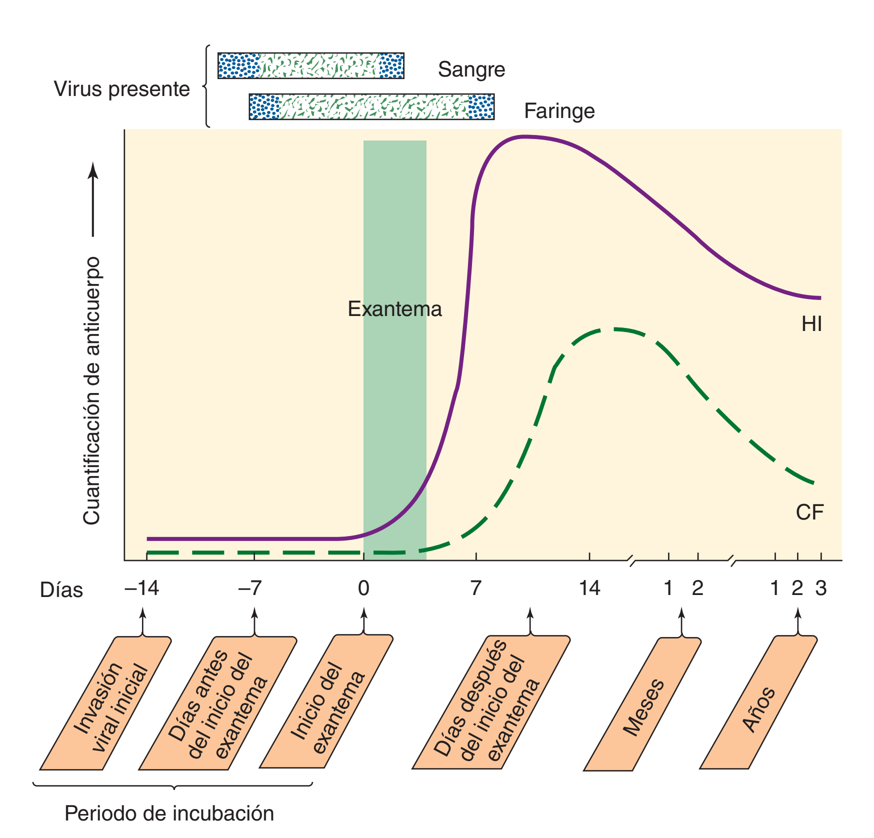


FIGURA 40-9 Evolución natural de la infección primaria por el virus de la rubéola: producción de virus y respuesta de anticuerpos.

con la artritis reumatoide. Las complicaciones infrecuentes son púrpura trombocitopénica y encefalitis.

Inmunidad

Los anticuerpos contra la rubéola aparecen en el suero de los pacientes conforme cede el exantema y la cuantificación de anticuerpos se eleva rápidamente en las siguientes una a tres semanas. Gran parte de los anticuerpos iniciales consisten en IgM, que por lo general no persisten más allá de las seis semanas después de la enfermedad. Los anticuerpos IgM contra la rubéola que se detectan en una sola muestra de suero obtenida dos semanas después del exantema son indicio de rubéola reciente. Los anticuerpos IgG contra la rubéola suelen persistir de por vida.

Un ataque de la enfermedad confiere inmunidad de por vida, ya que sólo existe un tipo antigénico del virus. Debido a la naturaleza no descrita del exantema, un antecedente de "rubéola" no es un índice fiable de inmunidad. Las madres inmunes transfieren los anticuerpos a sus descendientes, quienes luego quedan protegidos durante cuatro a seis meses.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico clínico de rubéola no es fiable, pues muchas infecciones virales producen síntomas similares a los de la rubéola. Parte del diagnóstico se basa en los estudios de laboratorio específicos (aislamiento del virus, detección del RNA viral o datos de seroconversión).

A. Aislamiento e identificación del virus

Los frotis nasofaríngeos o faríngeos obtenidos seis días antes y después del inicio del exantema son una buena fuente del virus de la rubéola. Se pueden utilizar diversos linajes celulares de origen en el mono o en el conejo. La rubéola produce un efecto citopático bastante insignificante en casi todos los linajes celulares. Utilizando células cultivadas a través del método de centrifugación y cultivo, se pueden detectar antígenos virales mediante inmunofluorescencia tres a cuatro días después de la inoculación.

B. Detección de ácido nucleico

Se puede utilizar RT-PCR para detectar ácido nucleico del virus de la rubéola directamente en muestras clínicas o en cultivos celulares utilizados para el aislamiento del virus. La tipificación molecular permite identificar subtipos y genotipos de virus y es útil en los estudios de vigilancia. Los frotis faríngeos son muestras apropiadas para la tipificación molecular.

C. Diagnóstico serológico

La prueba HI es una prueba serológica estándar para la rubéola. Sin embargo, el suero debe tratarse preliminarmente para eliminar los inhibidores inespecíficos antes de las pruebas. Se prefieren las pruebas de ELISA porque no es necesario el tratamiento preliminar del suero si se pueden adaptar para detectar IgM específica.

La detección de IgG es signo de inmunidad, ya que sólo hay un serotipo de virus de la rubéola. Para confirmar con exactitud una rubéola reciente (lo cual es decisivamente importante en el caso de una mujer embarazada), se debe demostrar una elevación del título de anticuerpo entre dos muestras de suero obtenidas a un intervalo mínimo de 10 días o bien IgM específica de la rubéola en un solo espécimen.

Las pruebas serológicas precisas para los anticuerpos de la rubéola son tan importantes que se comercializan diversos

estuches diagnósticos de diferentes formatos. La mayoría de los individuos no pueden evaluar de manera fiable su estado de inmunidad contra la rubéola, debido a que son frecuentes las infecciones asintomáticas y los exantemas provocados por otros virus pueden confundirse con rubéola.

Epidemiología

La rubéola tiene una distribución mundial. La infección se presenta durante todo el año con una incidencia máxima durante la primavera. Las epidemias ocurren cada seis a 10 años y las pandemias explosivas cada 20 a 25 años. La infección es transmitida por la vía respiratoria, pero la rubéola no es tan contagiosa como el sarampión.

En el periodo de 1962 a 1965 se presentó una epidemia mundial de rubéola. Hubo más de 12 millones de casos en Estados Unidos, lo que produjo 2 000 casos de encefalitis, más de 11 000 decesos fetales, 2 000 muertes neonatales y 20 000 lactantes nacidos con el síndrome de la rubéola congénita. La repercusión económica de esta epidemia en Estados Unidos se estimó en 1 500 millones de dólares. El empleo de la vacuna contra la rubéola eliminó tanto la rubéola epidémica como la endémica en Estados Unidos hacia el año 2005. Se está llevando a cabo un programa para eliminar también la rubéola y el síndrome de rubéola congénita en Centroamérica y Sudamérica.

Tratamiento, prevención y control

La rubéola es una enfermedad leve que cede espontáneamente y en la que no hay indicaciones para un tratamiento específico.

La rubéola demostrada mediante análisis de laboratorio durante los primeros tres a cuatro meses del embarazo casi siempre se acompaña de infección fetal. La inmunoglobulina intravenosa (IGIV) inyectada a la madre no protege al feto contra la rubéola porque no se suele administrar en una etapa lo suficientemente temprana para evitar la viremia.

Se ha contado con vacunas del virus de la rubéola vivos atenuados desde 1969. La vacuna está disponible como un antígeno simple o en combinación con la vacuna del sarampión y de la parotiditis. El principal propósito de la vacunación contra la rubéola es evitar las infecciones por rubéola congénita. El virus de la vacuna se multiplica en el organismo y es eliminado en pequeñas cantidades pero no se disemina a los contactos. Los niños vacunados no plantean ningún riesgo para las madres susceptibles ni para las embarazadas. En cambio, los niños no inmunizados pueden llevar a su hogar el virus silvestre y propagarlo a contactos familiares susceptibles. La vacuna induce a una inmunidad de por vida en un mínimo de 95% de los receptores.

La vacuna es tolerable y produce pocos efectos secundarios en los niños. En los adultos, los únicos efectos secundarios notables son la artralgia transitoria y la artritis en casi una cuarta parte de las mujeres vacunadas.

La vacunación en Estados Unidos redujo la frecuencia de rubéola desde casi 70 000 casos en 1969, hasta menos de 10 en 2004, casos que ocurrieron predominantemente en personas nacidas fuera de Estados Unidos. El virus ulteriormente se declaró erradicado de Estados Unidos. Los estudios de rentabilidad tanto en los países desarrollados como en los países en vías de desarrollo han demostrado que las ventajas de la vacunación contra la rubéola superan los costos.

SÍNDROME DE RUBÉOLA CONGÉNITA

Patogenia y anatomía patológica

La viremia materna relacionada con la infección por rubéola durante el embarazo puede dar por resultado infección de la placenta y el feto. Sólo un número limitado de células fetales se infecta. La tasa de crecimiento de las células infectadas se reduce y esto da por resultado una menor cantidad de células en los órganos afectados al nacer. La infección puede desencadenar alteraciones e hipoplasia en el desarrollo de los órganos y desencadenar anomalías estructurales en el recién nacido.

El periodo en el que ocurre la infección fetal determina la magnitud del efecto teratógeno. En general, cuanto más temprana sea la etapa del embarazo en la que ocurre la infección, tanto mayor será la lesión fetal. La infección durante el primer trimestre del embarazo produce anomalías en el lactante en casi 85% de los casos, en tanto que se detectan defectos en casi 16% de los lactantes que adquirieron la infección durante el segundo trimestre. Los defectos congénitos son infrecuentes si ocurre infección materna después de la vigésima semana de la gestación.

Las infecciones maternas no manifiestas pueden producir asimismo estas anomalías. La rubéola también puede producir la muerte fetal y aborto espontáneo.

La infección intrauterina con rubéola conlleva la persistencia crónica del virus en el recién nacido. Al nacer, el virus es fácil de detectar en las secreciones faríngeas, órganos múltiples, líquido cefalorraquídeo, orina y frotis rectales. La excreción viral puede durar 12 a 18 meses después del nacimiento, pero el grado de eliminación por lo general disminuye con la edad.

Manifestaciones clínicas

El virus de la rubéola se ha aislado en muchos órganos y tipos de células diferentes en lactantes infectados *in utero* y también la lesión provocada por la rubéola es difusa.

Las manifestaciones clínicas del síndrome de rubéola congénita pueden agruparse en tres amplias categorías: 1) efectos transitorios en los lactantes, 2) manifestaciones permanentes que pueden ser ostensibles al nacer o que se reconocen durante el primer año y 3) anomalías del desarrollo que aparecen y evolucionan durante la infancia y la adolescencia.

La tríada característica de la rubéola congénita consiste en cataratas, anomalías cardiacas y sordera. Los lactantes también manifiestan síntomas transitorios de retraso del crecimiento, exantema, hepatoesplenomegalia, ictericia y meningoencefalitis.

La infección del sistema nervioso central es más global. La manifestación del desarrollo más frecuente en la rubéola congénita es el retraso mental moderado a intenso. En los niños preescolares se presentan problemas de equilibrio y de las habilidades motoras. Los lactantes con afección grave pueden necesitar hospitalizarse.

La panencefalitis progresiva por la rubéola es una complicación infrecuente que se presenta en el segundo decenio de vida en niños con rubéola congénita y consiste en un agravamiento neurológico que inevitablemente avanza al fallecimiento.

Inmunidad

En condiciones normales, el anticuerpo contra la rubéola de la madre es transmitido a los lactantes y gradualmente se pierde

durante un periodo de seis meses. La demostración de anticuerpos de la rubéola de la clase IgM en los lactantes es diagnóstica de la rubéola congénita. Puesto que los anticuerpos de IgM no cruzan la placenta, su presencia indica que debe haberlos sintetizado el lactante *in utero*. Los niños con rubéola congénita muestran alteraciones de la inmunidad celular que son específicas del virus de la rubéola.

Tratamiento, prevención y control

No se dispone de ningún tratamiento específico para la rubéola congénita. Puede evitarse mediante la inmunización infantil con la vacuna de la rubéola para garantizar que las mujeres en edad de procrear sean inmunes.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un niño de cuatro años de edad presenta una enfermedad febril aguda. Su pediatra le diagnostica parotiditis. El órgano que más a menudo muestra signos de parotiditis es
   (A) Pulmones
   (B) Ovarios
   (C) Glándulas parótidas
   (D) Piel
   (E) Testículos
2. Los paramixovirus comprenden las causas más importantes de infecciones respiratorias en lactantes y en niños pequeños. ¿Cuál de las siguientes no es una característica de los paramixovirus?
   (A) El genoma es RNA de polaridad negativa
   (B) La envoltura contiene una glucoproteína con actividad de fusión
   (C) Los paramixovirus no experimentan reensamble genético
   (D) El ciclo de replicación se presenta en el citoplasma de células susceptibles
   (E) El genoma es segmentado
3. Un lactante de tres meses de edad presentó una enfermedad respiratoria que el pediatra diagnosticó como bronquiolitis. La causa más probable de la enfermedad es
   (A) Virus de la parainfluenza de tipo 4
   (B) Virus sincitial respiratorio
   (C) Virus de la influenza
   (D) Adenovirus de tipo 7
   (E) Virus del sarampión
4. Varios paramixovirus pueden causar neumonía en los lactantes o en los niños. ¿Para cuál de los siguientes paramixovirus se dispone de una vacuna eficaz que evitaría la neumonía?
   (A) Virus de la parainfluenza de tipo 1
   (B) Virus del sarampión
   (C) Virus sincitial respiratorio
   (D) Virus de la parotiditis
   (E) Metaneumovirus
5. Una mujer de 27 años de edad que tiene dos meses de embarazo presenta fiebre, malestar y artralgia. Aparece un exantema maculopapuloso fino en su cara, tronco y extremidades. Se diagnostica rubéola y hay la preocupación de que el feto se infectará, y esto dé como resultado un síndrome de rubéola congénita. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a dicho síndrome es correcta?
   (A) La enfermedad se puede evitar mediante la vacunación de niños de edad escolar con vacuna contra el sarampión
   (B) Las anomalías congénitas se presentan cuando una mujer embarazada no inmune es infectada en cualquier momento durante el embarazo
   (C) La sordera es un defecto frecuente que se presenta en el síndrome de rubéola congénita
   (D) Sólo cepas raras del virus de la rubéola son teratógenas
   (E) Ninguna de las anteriores
6. Un niño de cinco años de edad presenta febrícula, coriza, conjuntivitis y manchas de Koplik. El médico puede llegar a la conclusión de que
   (A) El niño probablemente no se ha vacunado satisfactoriamente con la vacuna MMR
   (B) La madre embarazada del niño corre el riesgo de infectarse y de que su niño no nacido presente anomalías congénitas, lo que comprende retraso mental
   (C) Se presentará un exantema en la cara del niño y durará sólo dos a tres días
   (D) El tratamiento del niño con el fármaco antiviral ribavirina debe iniciarse de inmediato para minimizar la posibilidad de que se presente encefalitis aguda
7. Los virus de la parainfluenza son ubicuos y producen enfermedades respiratorias en personas de todas las edades. Sin embargo, las reinfecciones con los virus de la parainfluenza son frecuentes debido a que
   (A) Existen muchos tipos antigénicos de virus de la parainfluenza y la exposición a nuevas cepas produce nuevas infecciones
   (B) Las infecciones del sistema respiratorio no desencadenan una respuesta inmunitaria sistémica
   (C) Ocurre una replicación limitada del virus que no logra estimular la producción de anticuerpos
   (D) El anticuerpo IgA secretor en la nariz tiene una vida breve y desaparece algunos meses después de la infección
8. Un niño de 20 meses tuvo una enfermedad caracterizada por fiebre, irritabilidad, conjuntivitis y un exantema de color rojo de ladrillo al principio en la cara, pero más tarde se diseminó hacia abajo y hacia afuera. A los nueve años de edad el niño tuvo instauración gradual de deterioro neurológico grave generalizado. Se le diagnosticó panencefalitis esclerosante subaguda. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones sobre el SSPE es correcta?
   (A) El virus defectuoso de la varicela-zóster se presenta en las células del cerebro
   (B) Se detectan altos títulos de anticuerpo contra el sarampión en el líquido cefalorraquídeo
   (C) La frecuencia de la enfermedad está aumentando desde el advenimiento de la vacuna de la parotiditis, sarampión y rubéola (MMR)
   (D) Ocurre un deterioro rápidamente progresivo de la función cerebral
   (E) La enfermedad es una complicación tardía e infrecuente de la rubéola
9. ¿Cuál de los siguientes paramixovirus tiene una glucoproteína de superficie HN que carece de la actividad de hemaglutinina?
   (A) Virus del sarampión
   (B) Virus de la parotiditis
   (C) Virus de la parainfluenza de tipo 1
   (D) Virus sincitial respiratorio
   (E) Virus de la rubéola
10. Una niña de tres años de edad presenta una infección viral respiratoria aguda que exige hospitalización. Se evalúa el tratamiento con ribavirina. ¿Para el tratamiento de cuál de las siguientes situaciones está autorizada la ribavirina?
    (A) Enfermedad de las vías respiratorias bajas debida al virus sincitial respiratorio en los lactantes

(B) Síndrome de rubéola congénita
(C) Meningitis aséptica debida a infección por el virus de la parotiditis
(D) Neumonía causada por el virus del sarampión en los adultos
(E) Encefalitis relacionada con el virus de Nipah
(F) Todas las anteriores

11. Los análisis de RT-PRC son útiles para el diagnóstico de las infecciones por paramixovirus. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a la RT-PCR no son correctas?

(A) Análisis más sensible que el aislamiento del virus
(B) Permite identificar cepas de virus
(C) Análisis más rápido que la detección de antígeno
(D) Permite obtener datos sobre la variación genética para los estudios de epidemiología molecular
(E) Análisis más específico para los virus de la parainfluenza que el estudio serológico

Respuestas

1. C	4. B	7. D	10. A
2. E	5. C	8. B	11. C
3. B	6. A	9. D	

BIBLIOGRAFÍA

Calisher CH et al: Bats prove to be rich reservoirs for emerging viruses. Microbe 2008;3:521.

Delgado MF et al: Lack of antibody affinity maturation due to poor Toll-like receptor stimulation leads to enhanced respiratory syncytial virus disease. Nature Med 2009;15:34. [PMID: 19079256]

Eaton BT, Broder CC, Middleton D, Wang LF: Hendra and Nipah viruses: Different and dangerous. Nature Rev Microbiol 2006;4:23. [PMID: 16357858]

Falsey AR et al: Human metapneumovirus infections in young and elderly adults. J Infect Dis 2003;187:785. [PMID: 12599052]

Hall CB: Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus. N Engl J Med 2001;344:1917. [PMID: 11419430]

Henrickson KJ: Parainfluenza viruses. Clin Microbiol Rev 2003;16:242. [PMID: 12692097]

Kahn JS: Epidemiology of human metapneumovirus. Clin Microbiol Rev 2006;19:546. [PMID: 16847085]

Lamb RA, Parks GD: Paramyxoviridae: The viruses and their replication. In: *Fields Virology*, 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Mahony JB: Detection of respiratory viruses by molecular methods. Clin Microbiol Rev 2008;21:716. [PMID: 18854489]

Mumps virus vaccines. WHO position paper. Wkly Epidemiol Rec 2007;82:51.

CAPÍTULO

41

Coronavirus

Los coronavirus son virus de RNA de gran tamaño con envoltura. Los coronavirus humanos producen resfriados comunes y se les ha atribuido participación en la gastroenteritis de lactantes. Un coronavirus nuevo se identificó como la causa de un brote epidémico mundial de un síndrome respiratorio agudo grave (SARS, *severe acute respiratory syndrome*) en 2003. Los coronavirus producen enfermedades de importancia económica en los animales domésticos; en animales inferiores establecen infecciones resistentes en sus hospedadores naturales. Los virus humanos son difíciles de cultivar y por tanto tienen una caracterización más deficiente.

PROPIEDADES DE LOS CORONAVIRUS

En el cuadro 41-1 se enumeran propiedades importantes de los coronavirus.

Estructura y composición

Los coronavirus son partículas de 120 a 160 nm, con envoltura, que contienen un genoma no segmentado de RNA monocatenario de polaridad positiva (27 a 32 kb), el genoma más grande entre los virus de ácido ribonucleico. Los genomas son poliadenilados en el extremo 3′. El RNA genómico aislado es infeccioso. La nucleocápside helicoidal tiene un diámetro de 9 a 11 nanómetros. En la superficie externa de la envoltura hay proyecciones ampliamente espaciadas de forma de palo de golf o de pétalo de 20 nm de longitud, sugestivas de una corona solar (fig. 41-1). Las proteínas estructurales del virus comprenden una proteína de la nucleocápside (N) fosforilada de 50 a 60 kDa, una glucoproteína de membrana (M) de 20 a 35 kDa que sirve de proteína de matriz embebida en la doble capa de lípido de la envoltura y que interacciona con la nucleocápside, y la glucoproteína de espiga (S; 180 a 220 kDa) que constituye los peplómeros de forma de pétalo. Algunos virus, incluido el coronavirus humano OC43, contienen una tercera glucoproteína (HE; 35 kDa) que causa hemaglutinación y tiene una actividad de acetilesterasa.

En la figura 41-2 se muestran las organizaciones del genoma de los coronavirus representativos. El orden de los genes para las proteínas codificadas por todos los coronavirus es Pol-S-E-M-N-3′. El número y el orden de genes en los coronavirus varían con los marcos de lectura abiertos que codifican proteínas no estructurales y la proteína HE. El virus SARS contiene un número comparativamente grande de genes interpuestos para las proteínas no estructurales en el extremo 3′ del genoma.

Clasificación

Los Coronaviridae son una de dos familias, junto con los Asteriviridae, del orden Nidovirales. Las características que se utilizan para clasificar a los Coronaviridae son la morfología de la partícula, la estrategia de replicación de RNA singular, la organización del genoma y la homología de secuencia del nucleótido. Hay dos géneros en la familia Coronaviridae: *Coronavirus* y *Torovirus*. Los torovirus se hallan dispersos en ungulados y al parecer se relacionan con las diarreas.

Parece haber dos serogrupos de coronavirus humanos, representados por las cepas 229E y OC43. El coronavirus nuevo aislado en 2003 en pacientes con SARS corresponde al mismo grupo (grupo 2) que OC43. En estos dos grupos se incluyen los coronavirus de animales domésticos y roedores. Hay un tercer grupo antigénico distintivo que contiene el virus de la bronquitis infecciosa aviar de los pollos. Al parecer existe una heterogeneidad antigénica importante entre las cepas virales de un grupo antigénico principal (es decir, parecido a 229E). Se presentan reacciones cruzadas entre algunas cepas humanas y ciertas cepas animales. Algunas cepas tienen hemaglutininas.

CUADRO 41-1 Propiedades importantes de los coronavirus

Virión: Esférico, 120 a 160 nm de diámetro, nucleocápside helicoidal
Genoma: RNA monocatenario, lineal, no segmentado, de polaridad positiva, de 27 a 32 kb, incorporado en la cápside y poliadenilado, infeccioso
Proteínas: Dos glucoproteínas y una fosfoproteína. Algunos virus contienen una tercera glucoproteína (hemaglutinina esterasa)
Envoltura: Contiene grandes espigas ampliamente espaciadas, de forma de palo de golf o pétalo
Replicación: Citoplasma; las partículas maduran por gemación en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi
Características sobresalientes: Producen resfriados comunes y SARS Muestran una gran frecuencia de recombinación Difíciles de multiplicarse en cultivo celular



FIGURA 41-1 Coronavirus humano OC43. Obsérvense las espigas grandes características ampliamente espaciadas que forman una "corona" alrededor del virión (297 000×). (Cortesía de FA Murphy y EL Palmer.)

Los virus también pueden clasificarse en los mismos grupos basándose en el análisis de secuencia del genoma.

Replicación de coronavirus

Puesto que los coronavirus humanos no se multiplican bien en cultivo celular, los detalles de la replicación viral se han descubierto en estudios con virus de la hepatitis del ratón, que está íntimamente relacionado con la cepa humana o C43 (fig. 41-3). El ciclo de replicación ocurre en el citoplasma de las células.

El virus se adhiere a los receptores en las dianas celulares mediante las espigas de glucoproteínas presentes en la envoltura viral (sea mediante S o HE). El receptor para el coronavirus humano 229E es una aminopeptidasa N en tanto que un receptor funcional para el virus del SARS es la enzima convertidora de angiotensina 2. Múltiples isoformas de la familia de las glucoproteínas relacionadas con el antígeno carcinoembrionario sirven de receptores para el coronavirus del ratón. La partícula es luego interiorizada, probablemente mediante endocitosis con absorción. La glucoproteína S puede causar fusión de la envoltura viral con la membrana celular.

El primer fenómeno después de la desenvoltura es la traducción del RNA genómico viral para producir una RNA polimerasa dependiente de RNA específico del virus. La polimerasa viral transcribe un RNA complementario de longitud completa (cadena negativa) que sirve de plantilla para una serie anidada de 5 a 7 mRNA subgenómicos. Sólo se traduce la secuencia del gen de 5′-terminal de cada mRNA. Las copias de RNA genómico de longitud completa también se transcriben del RNA complementario. Puesto que cada mRNA subgenómico se traduce en un polipéptido unitario, no son frecuentes los precursores de poliproteínas en las infecciones por coronavirus, aunque el RNA genómico codifica una poliproteína de gran tamaño que es procesada para generar la polimerasa de RNA viral.

Las moléculas de RNA genómico recién sintetizadas interaccionan en el citoplasma con la proteína de la nucleocápside para formar nucleocápsides helicoidales. Hay un lugar de fijación preferido para la proteína N dentro del RNA directriz. Las nucleocápsides experimentan gemación a través de las membranas de retículo endoplásmico rugoso y el aparato de Golgi en zonas que contienen las glucoproteínas virales. Los viriones maduros luego son transportados en vesículas a la periferia celular para su salida o pueden esperar hasta que las células mueran y entonces ser liberados.

Los viriones al parecer no se forman por la gemación en la membrana plasmática. Puede verse un gran número de partículas en el exterior de las células infectadas y supuestamente se adsorben a la misma después de la liberación del virión. Determinados coronavirus desencadenan la fusión celular, la cual es mediada por la glucoproteína S y necesita un pH de 6.5 o más. Algunos coronavirus establecen infecciones persistentes en las células en vez de ser citocidas.

Los coronavirus muestran una gran frecuencia de mutación durante cada ronda de replicación, lo que comprende la generación de una alta frecuencia de mutaciones por deleción. Los coronavirus experimentan una recombinación muy frecuente durante la replicación; esto es infrecuente para un virus de RNA con un genoma no segmentado y puede contribuir a la evolución de nuevas cepas de virus.

INFECCIONES POR CORONAVIRUS EN SERES HUMANOS

Patogenia

Los coronavirus tienden a ser muy específicos de especies. Es poco lo que se sabe sobre la patogenia de las infecciones por coronavirus en el ser humano. La mayor parte de los coronavirus y animales conocidos muestran un tropismo para las células epiteliales del sistema respiratorio o del tubo digestivo. Las infecciones por coronavirus *in vivo* pueden diseminarse, al igual que con el virus de la hepatitis del ratón, o mantenerse circunscritas. Las infecciones por coronavirus en el ser humano suelen mantenerse limitadas a las vías respiratorias altas.

En cambio, el brote de SARS en 2003 se caracterizó por una enfermedad respiratoria grave, que comprendía neumonía e insuficiencia respiratoria progresiva. El virus también se puede detectar en otros órganos como riñón, hígado e intestino delgado, lo mismo que en las heces. El virus del SARS probablemente se originó en un hospedador no humano, muy posiblemente murciélagos, se amplificó en civetas de palmera y se transmitió al ser humano en los mercados de hígado animal. Los murciélagos de herradura chinos son reservorios naturales de coronavirus similares al del SARS. En regiones rurales del sur de China, donde comenzó el brote epidémico, las personas, los cerdos y las aves domésticas viven juntos y hay un uso generalizado de especies silvestres para alimentación y medicina tradicional (condiciones que favorecen el surgimiento de nuevas cepas virales).

Se sospecha que los coronavirus causan algunas gastroenteritis en el ser humano. Hay varios modelos animales para los coronavirus entéricos, como el virus de la gastroenteritis trans-

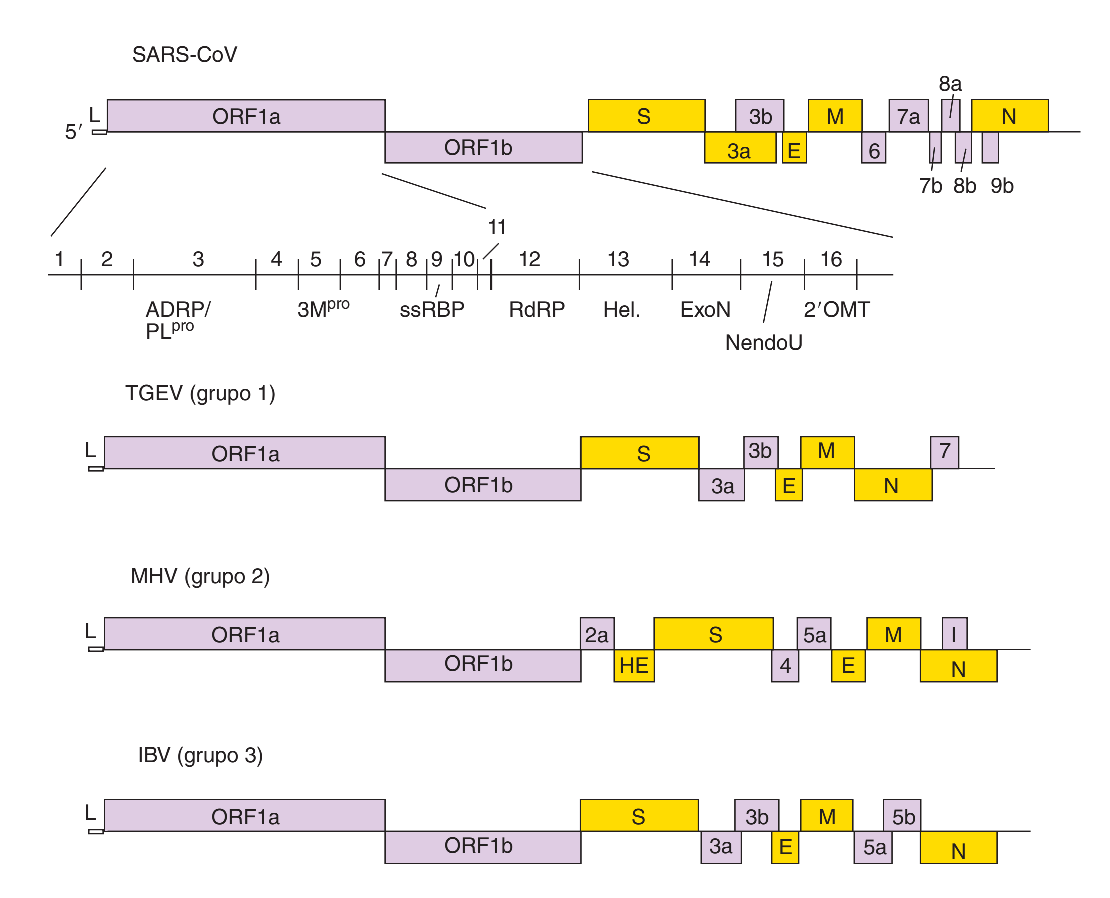


FIGURA 41-2 Organización genómica de los coronavirus. El genoma del coronavirus de SARS (SARS-CoV) es de casi 29.7 kb. Los genomas para TGEV porcino, el virus de la hepatitis del ratón (MHV) y el virus de la bronquitis infecciosa aviar (IBV) son de aproximadamente 28.5, 31.2 y 27.6 kilobases. Las cajas sombreadas en amarillo representan marcos de lectura abiertos (ORF) que codifican proteínas estructurales; otras cajas codifican proteínas no estructurales. Los ORF separados dentro de cada gen se traducen de una especie individual de RNA mensajero. Los productos de desdoblamiento de ORF1 se designan nsp1-16. S, Espiga; E, envoltura; M, transmembrana; N, nucleocápside; ADRP, difosfato de adenosina-ribosa 1′-fosfatasa; PL^{pro}, cisteína proteinasa parecida a la papaína; M^{pro}, la principal cisteína proteinasa (también llamada $3CL^{pro}$); ssRBP, proteína monocatenaria de fijación de RNA; RdRP, RNA polimerasa dependiente de RNA; Hel., helicasa de superfamilia 1; ExoN, 3′ → 5′ exonucleasa; NendoU, endorribonucleasa poli(U)-específica; 2′OMT, ribosa 2′-O-metiltransferasa dependiente de S-adenosilmetionina. (Reproducida con autorización de Lai MMC, Perlman S, Anderson LJ: Coronaviridae. En: *Fields Virology,* 5th ed. Knipe DM, et al [editors]. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.)

misible (TGEV, *transmissible gastroenteritis virus*) porcina. La enfermedad se presenta en animales jóvenes y se caracteriza por la destrucción de la célula epitelial y la pérdida de la capacidad de absorción. En el decenio de 1980 apareció en Europa un nuevo coronavirus respiratorio porcino (PRCV, *porcine respiratory coronavirus*) y produjo epizootias generalizadas en los cerdos. El análisis de la frecuencia demostró que el PRCV se derivaba del TGEV mediante una gran deleción en la glucoproteína S1.

Manifestaciones clínicas

Los coronavirus humanos producen "resfriados comunes", por lo general afebriles, en los adultos. Los síntomas son similares a los producidos por rinovirus, caracterizados por secreción nasal y ataque al estado general. El periodo de incubación es de dos a cinco días y los síntomas suelen persistir durante una semana aproximadamente. Raras veces resultan afectadas las vías respiratorias bajas, aunque la neumonía en reclutas se ha atribuido a infección por coronavirus. Los niños asmáticos pueden padecer ataques de sibilancias y la enfermedad pulmonar crónica en los adultos puede exacerbar los síntomas respiratorios.

El coronavirus del SARS produce enfermedad respiratoria grave. El periodo de incubación promedia los seis días. Los primeros síntomas frecuentes son fiebre, ataque al estado general, escalofríos, cefalea, somnolencia, tos y faringitis, seguida algunos días después de disnea. Muchos pacientes tienen radiografías torácicas anormales. Algunos casos evolucionan con rapidez a la dificultad respiratoria aguda que requiere apoyo con ventilación mecánica. La muerte por insuficiencia respiratoria progresiva ocurre en casi 10% de los casos y la tasa de mortalidad es más alta en los ancianos.

No se han descrito claramente las manifestaciones clínicas de la enteritis relacionada con coronavirus. Al parecer son similares a las de las infecciones por rotavirus.

Inmunidad

Al igual que con otros virus respiratorios, sobreviene inmunidad pero no es absoluta. La inmunidad contra el antígeno de proyección de la superficie probablemente es muy importante para la protección. La resistencia a la reinfección puede durar varios años, pero son frecuentes las reinfecciones por cepas similares.

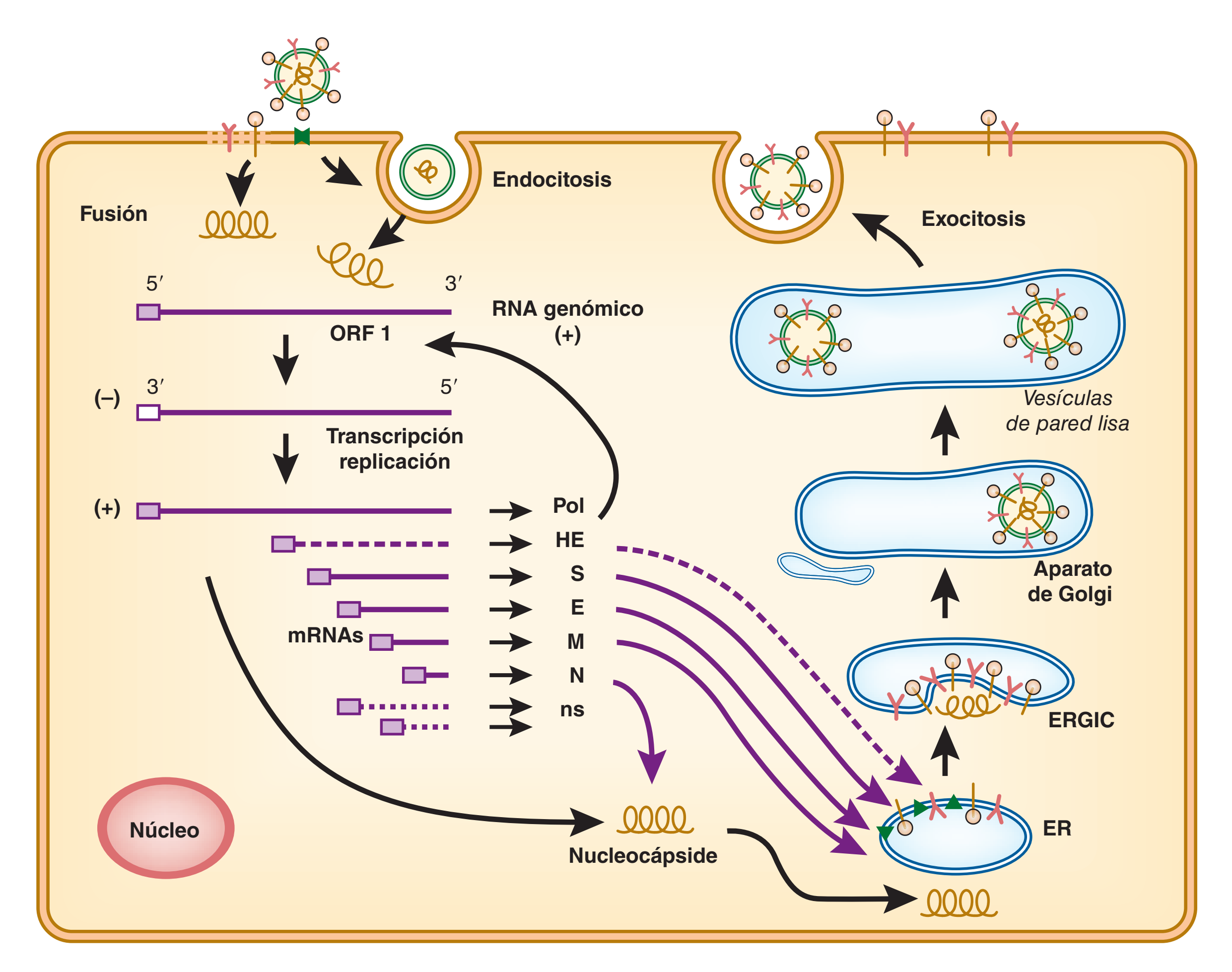


FIGURA 41-3 Ciclo de replicación del coronavirus. Los viriones se unen a glucoproteínas de receptor específico o a glucanos a través de la proteína de espiga. La penetración y la desenvoltura ocurren por la fusión, mediada por la proteína S, de la envoltura viral con la membrana plasmática o las membranas endosómicas. El gen 1 del RNA genómico viral se traduce en una poliproteína, la cual es procesada para generar el complejo transcriptasa-replicasa. Se utiliza el RNA genómico como un templete para sintetizar RNA de tira negativa, que se utiliza para sintetizar RNA genómico de longitud completa y nRNA subgenómico. Cada mRNA es traducido para generar sólo la proteína codificada por el 5′-terminal del mRNA, lo que comprende las proteínas no estructurales. La proteína N y el RNA genómico recién sintetizado se ensamblan para formar nucleocápsides helicoidales. La glucoproteína M de la membrana se injerta en el retículo endoplásmico (ER) y se ancla en el aparato de Golgi. La nucleocápside (N más RNA genómico) se une a la proteína N en el compartimiento de gemación (ERGIC). Las proteínas E y M interaccionan para desencadenar la gemación de viriones, encerrando la nucleocápside. Las glucoproteínas S y HE son glucosiladas y trimerizadas, asociadas a la proteína M y se incorporan en las partículas virales en maduración. Los viriones son liberados por la función de vesículas con la membrana plasmática de una manera parecida a la exocitosis. Los viriones pueden mantenerse adsorbidos a las membranas plasmáticas de las células infectadas. Todo el ciclo de replicación del coronavirus ocurre en el citoplasma. (Reproducida con autorización de Lai MMC, Perlman S, Anderson LJ: Coronaviridae. En: *Fields Virology*, 5th ed. Knipe DM, et al [editors]. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.)

La mayoría de los pacientes (>95%) con SARS presentan una respuesta de anticuerpo a antígenos virales que es detectable mediante una prueba de anticuerpo fluorescente o bien análisis de inmunosorbente ligado a enzimas (ELISA). Es importante obtener el suero de fase de convalecencia más de 28 días después del inicio de los síntomas.

Diagnóstico de laboratorio

A. Detección de antígeno y ácido nucleico

Los antígenos de coronavirus presentes en las células de secreciones respiratorias pueden detectarse utilizando la prueba de ELISA si se dispone de un antisuero de gran calidad. Se pueden detectar coronavirus entéricos mediante el examen de muestras de heces en el microscopio electrónico. Los análisis de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) son útiles para detectar ácido nucleico de coronavirus en las secreciones respiratorias y en las muestras fecales. El RNA del virus del SARS fue detectable en el plasma mediante PCR y la viremia es más fácil de detectar entre los días 4 y 8 de la infección.

B. Aislamiento e identificación del virus

El aislamiento de los coronavirus humanos en cultivo celular ha sido difícil. Sin embargo, el virus del SARS se aisló de muestras de la bucofaringe utilizando células renales de mono Vero.

C. Diagnóstico serológico

Dada la dificultad del aislamiento del virus, el diagnóstico serológico utilizando sueros en etapa aguda y convaleciente es el

medio práctico de confirmar las infecciones por coronavirus. Se pueden utilizar ELISA y pruebas de hemaglutinación. El diagnóstico serológico de las infecciones por la cepa 229E es posible utilizando una prueba de hemaglutinación pasiva en la cual los eritrocitos cubiertos con antígeno de coronavirus son aglutinados por sueros que contienen anticuerpo.

Epidemiología

Los coronavirus tienen una distribución mundial. Son una causa importante de enfermedad respiratoria en los adultos durante algunos meses de invierno cuando es alta la frecuencia de resfriados comunes, pero es infrecuente el aislamiento de rinovirus u otros virus respiratorios. Tienden a relacionarse con brotes epidémicos bien definidos.

Se estima que los coronavirus producen 15 a 30% de todos los resfriados comunes. La frecuencia de infecciones por coronavirus es muy variable de un año a otro, con fluctuación de 1 a 35% en un estudio a tres años.

Los anticuerpos para los coronavirus respiratorios aparecen en la infancia, aumenta su prevalencia con la edad y se encuentran en más de 90% de los adultos. Al parecer la reinfección con síntomas puede presentarse tras un periodo de un año.

Los coronavirus suelen relacionarse con enfermedades respiratorias agudas en los ancianos, junto con los rinovirus, el virus de influenza y el virus sincitial respiratorio. Se estima que la frecuencia de infección por coronavirus es de casi la mitad que la originada por rinovirus y es equivalente a la de estos dos últimos virus. Se ha demostrado que el coronavirus que produce SARS puede transmitirse en el aire en un contexto clínico, lo que indica que podría ocurrir la transmisión a través del aire. Asimismo, se ha observado la contaminación por el virus del SARS de superficies tocadas con frecuencia, como la cama (fómites).

El brote de SARS surgió en el sur de China a finales de 2002 y para el tiempo en que desapareció a mediados de 2003 había producido más de 8 000 casos en 29 países, con más de 800 decesos (tasa de mortalidad de casos de 9.6%). En casi todos los casos había un antecedente de contacto cercano con un paciente de SARS o un viaje reciente a una zona donde se notificó síndrome respiratorio agudo grave. Los viajes aéreos internacionales permitieron la propagación de SARS en todo el mundo con una rapidez sin precedente. La experiencia con el SARS ilustró que en un mundo globalizado, un brote de una enfermedad infecciosa en cualquier lugar hace que todo el país quede en riesgo.

Es interesante que algunas personas con SARS fuesen identificadas como “superpropagadoras”; cada una de ellas al parecer había infectado a más de 10 contactos. Se han descrito superpropagadoras para otras enfermedades como rubéola, enfermedad de Ébola y tuberculosis y posiblemente reflejen una determinada gama de factores relacionados con el hospedador, virales y ambientales.

Se sabe muy poco de las características epidemiológicas de las infecciones intestinales por coronavirus.

Tratamiento, prevención y control

No se dispone de ningún tratamiento demostrado para las infecciones por coronavirus ni de ninguna vacuna.

Las medidas de control que fueron eficaces para detener la diseminación de SARS comprendieron aislamiento de los pacientes, cuarentena de los que habían estado expuestos y restricciones de viaje, así como el empleo de guantes, batas, gafas y respiradores por el personal sanitario.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una mujer de 63 años de edad presenta fiebre, cefalea, malestar, mialgias y tos. Es la época inicial de la temporada de invierno de los virus respiratorios y el médico de la paciente no sabe cuáles virus están presentes en la población. ¿Cuál de los siguientes virus no es una causa de enfermedad respiratoria aguda?
   (A) Virus de la inflenza
   (B) Adenovirus
   (C) Virus sincitial respiratorio
   (D) Coronavirus
   (E) Rotavirus

2. Basándose en el análisis de secuencia y en los análisis serológicos, ¿cuál de los siguientes es el origen más probable de los coronavirus que produce SARS?
   (A) Recombinación entre un coronavirus humano y un animal que creó un nuevo virus
   (B) Salto de un coronavirus animal al ser humano
   (C) Mutación de un coronavirus humano que produjo un aumento de la virulencia
   (D) Adquisición de genes celulares humanos por un coronavirus humano a través de la recombinación que permitió la evasión de la respuesta inmunitaria del hospedador por el virus

3. La epidemia de SARS por coronavirus en 2002-2003 produjo muchos casos y decesos. ¿Cuál es la vía principal de transmisión de los coronavirus humanos?
   (A) Fecal-oral
   (B) Respiratoria
   (C) Sangre
   (D) Perinatal de madre a lactante
   (E) Actividad sexual

4. Las infecciones por coronavirus en el ser humano suelen producir un síndrome de resfriado común. Sin embargo, un brote epidémico reciente de SARS se caracterizó por neumonía e insuficiencia respiratoria progresiva. La prevención o el tratamiento de estas enfermedades se puede lograr mediante
   (A) Una vacuna de subunidad
   (B) Una vacuna de virus vivos atenuados adaptados al frío
   (C) El fármaco viral amantadina
   (D) Medidas del control de la infección, que comprenden aislamiento y uso de prendas protectoras
   (E) El fármaco antiviral aciclovir

5. Una epidemia de infecciones virales respiratorias agudas ocurrió en residentes ancianos de un asilo. Se sospechan los virus de la influenza y los coronavirus, que pueden causar enfermedad respiratoria grave en los ancianos. ¿Cuál de las siguientes características es compartida por estos virus?
   (A) Genoma segmentado
   (B) Genoma de RNA infeccioso
   (C) Alta frecuencia de recombinación durante la replicación
   (D) Serotipo simple que infecta al ser humano
   (E) Genoma de polaridad negativa

6. Las siguientes son características frecuentes de los coronavirus, *excepto* una. ¿Cuál no es correcta?
   (A) Poseen antígenos de reactividad cruzada con los virus de la influenza
   (B) Contienen los genomas más grandes entre los virus de RNA
   (C) Pueden causar gastroenteritis
   (D) Tienen una distribución mundial

Respuestas

1. E	3. B	5. C
2. B	4. D	6. A

BIBLIOGRAFÍA

Baric RS, Hu Z (editors): SARS-CoV pathogenesis and replication. Virus Res 2008;133(Issue 1). [Entire issue.]

Booth TF et al: Detection of airborne severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus and environmental contamination in SARS outbreak units. J Infect Dis 2005;191:1472. [PMID: 15809906]

Cheng VCC et al: Severe acute respiratory syndrome coronavirus as an agent of emerging and reemerging infection. Clin Microbiol Rev 2007;20:660. [PMID: 17934078]

Lee N et al: A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. N Engl J Med 2003;348:1986. [PMID: 12682352]

Mahony JB: Detection of respiratory viruses by molecular methods. Clin Microbiol Rev 2008;21:716. [PMID: 18854489]

Perlman S, Dandekar AA: Immunopathogenesis of coronavirus infections: Implications for SARS. Nature Rev Immunol 2005;5:917. [PMID: 16322745]

Rota PA et al: Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. Science 2003;30:1394. [PMID: 12730500]

C A P Í T U L O

42

Rabia, infecciones por virus lentos y enfermedades priónicas

Muchos virus diferentes pueden invadir el sistema nervioso central y causar enfermedades. En este capítulo se describe la rabia, una encefalitis viral temida desde la antigüedad que todavía es incurable; las infecciones por virus lentos; y las encefalopatías espongiformes transmisibles (trastornos neurodegenerativos raros que son causados por agentes no convencionales llamados "priones").

RABIA

La rabia es una infección aguda del sistema nervioso central que casi siempre resulta mortal. El virus suele transmitirse al ser humano por la mordedura de un animal rabioso. Aunque el número de casos humanos es pequeño, la rabia es un problema de salud pública importante pues está diseminada en diferentes reservorios animales.

Propiedades del virus

A. Estructura

El virus de la rabia es un rabdovirus con propiedades morfológicas y bioquímicas similares a las del virus de la estomatitis vesicular del ganado y varios virus de animales, plantas e insectos (cuadro 42-1). Los rabdovirus son partículas de forma de vara o de bala que miden 75 × 180 nm (fig. 42-1). Las partículas están rodeadas por una envoltura membranosa con espículas sobresalientes, de 10 nm de longitud. Los peplómeros (espículas) se forman con trímeros de la glucoproteína viral. Dentro de la envoltura está una ribonucleocápside. El genoma es un RNA monocatenario de polaridad negativa (12 kb; PM de 4.6×10^6). Los viriones contienen una RNA polimerasa dependiente de RNA. Las partículas tienen una densidad de flotación en CsCl de casi 1.19 g/cm^3 y un peso molecular de 300 a 1 000 × 10^6.

B. Clasificación

Los virus se clasifican dentro de la familia **Rhabdoviridae**. El virus de la rabia pertenece al género *Lyssavirus,* en tanto que los virus similares a los de la estomatitis vesicular son miembros del género *Vesiculovirus.* Los rabdovirus tienen una distribución muy amplia en la naturaleza, e infectan invertebrados, vertebrados y plantas. El virus de la rabia es el único de importancia médica. Muchos de los rabdovirus animales infectan insectos, pero no el virus de la rabia.

C. Reacciones a agentes físicos o químicos

El virus de la rabia sobrevive al almacenamiento a una temperatura de 4°C durante semanas y a −70°C por años. Es inactivado por CO_2 de manera que en hielo seco se debe almacenar en frascos de vidrio sellados. El virus de la rabia se destruye rápidamente por exposición a la radiación ultravioleta o a la luz solar, mediante calentamiento (1 h a 50°C), con solventes de lípidos (éter, desoxicolato de sodio al 0.1%), con tripsina, detergentes o con extremos de pH.

D. Replicación del virus

En la figura 42-2 se muestra el ciclo de replicación del rabdovirus. El virus de la rabia se adhiere a las células a través de sus proyecciones de glucoproteína; el receptor de acetilcolina nicotínico puede servir de receptor celular para el virus de la rabia. El genoma de RNA monocatenario es transcrito por la RNA polimerasa asociada al virión a cinco especies de mRNA. La plantilla para la transcripción es el genoma de RNA en la forma de ribonucleoproteína (RNP) (envuelta en la proteína N y que contiene la transcriptasa viral). Los mRNA monocistrónicos codifican las cinco proteínas del virión: nucleocápside (N), polimerasa proteínas (L, P), matriz (M) y glucoproteína (G). El genoma RNP es una plantilla para el RNA complementario de polaridad positiva que es responsable para la generación de progenie de RNA de polaridad negativa. Las

CUADRO 42-1 Propiedades importantes de los rabdovirus

Virión: Forma de bala, 75 nm de diámetro × 180 nm de longitud
Composición: RNA (4%), proteína (67%), lípido (26%), carbohidrato (3%)
Genoma: RNA monocatenario, lineal, no segmentado, de polaridad negativa, de PM 4.6 millones, 12 kb
Proteínas: Cinco proteínas principales; una es la glucoproteína de la envoltura
Envoltura: Presente
Replicación: Citoplasma; los viriones experimentan gemación a partir de la membrana plasmática
Características sobresalientes: Amplia gama de virus con amplia gama de hospedadores; El grupo comprende el virus de la rabia letal



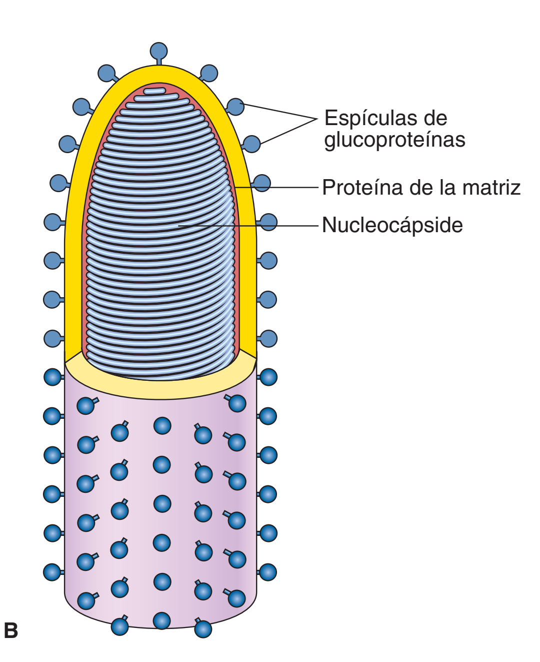


FIGURA 42-1 Estructura de los rabdovirus. **A:** Microfotografía electrónica de una partícula de forma de bala característica de la familia de los rabdovirus (100 000×). Se muestra aquí el virus de la estomatitis vesicular con tinción negativa con fosfotungstato de potasio. (Cortesía de RM Mc-Combs, M Benyesh-Melnick y JP Brunschwig.) **B:** Modelo esquemático del virus de la rabia que muestra la superficie de las espículas de glucoproteína que se extienden desde la envoltura lipídica que rodea la nucleocápside interna y la proteína de la matriz que reviste la envoltura. La nucleocápside comprende el genoma de RNA único más la nucleoproteína y las proteínas de polimerasa. (Reproducida con autorización de Cowan MK, Talaro KP: Microbiology. A Systems Approach, 2nd ed. McGraw-Hill, 2009.)

mismas proteínas virales funcionan como polimerasa para la replicación del RNA viral y también para la transcripción. Es necesaria la traducción constante para la replicación, sobre todo para las proteínas N y P virales. El RNA genómico recién replicado se asocia a la transcriptasa y la nucleoproteína del virus para formar núcleos de RNP en el citoplasma. Las partículas adquieren una envoltura mediante la gemación a través de la membrana plasmática. La proteína de la matriz viral forma una capa en el lado interno de la envoltura, en tanto que la glucoproteína viral se encuentra en la capa externa y forma las proyecciones externas.

E. Susceptibilidad de animales y multiplicación del virus

El virus de la rabia tiene una amplia gama de hospedadores. Todos los animales de sangre caliente, incluidos los seres humanos, pueden infectarse. La susceptibilidad varía entre las especies de mamíferos y fluctúa desde muy alta (zorros, coyotes, lobos) a baja (zarigüeyas); los que tienen una susceptibilidad intermedia son zorrillos, mapaches y murciélagos (cuadro 42-2). El virus tiene una amplia distribución en animales infectados, sobre todo en sistema nervioso, saliva, orina, linfa, leche y sangre. El restablecimiento de la infección es infrecuente excepto en algunos murciélagos, donde el virus se ha adaptado peculiarmente a las glándulas salivales. Los murciélagos hematófagos pueden transmitir el virus por meses sin haber mostrado ningún signo de enfermedad.

Cuando se tienen aislamientos recientes en laboratorio, las cepas se designan como virus de la calle. Tales cepas muestran periodos de incubación largos y variables (por lo general 21 a 60 días en los perros) y por lo regular producen cuerpos de inclusión intracitoplásmicos. El paso serial de cerebro a cerebro en los conejos genera un virus "fijo" que ya no se multiplica en tejidos extraneurales. Este virus fijo (o mutante) se multiplica con rapidez y el periodo de incubación se acorta de cuatro a seis días. Los cuerpos de inclusión se detectan sólo con dificultad.

F. Propiedades antigénicas

Hay un solo serotipo del virus de la rabia. Sin embargo, existen diferencias de cepas entre los virus aislados de diferentes especies (mapaches, zorros, zorrillos, caninos, murciélagos) en diferentes zonas geográficas. Estas cepas virales pueden distinguirse por los epítopos en la nucleoproteína y en la glucoproteína reconocidos por anticuerpos monoclonales y también por secuencias de nucleótido específicas. Existen por lo menos siete variantes antigénicas detectadas en animales terrestres y murciélagos.

La glucoproteína G es un factor importante en la neuroinvasividad y la patogenicidad del virus de la rabia. Se han seleccionado mutantes avirulentas del virus de la rabia utilizando determinados anticuerpos monoclonales contra la glucoproteína viral. Una sustitución en la posición 333 del aminoácido de la glucoproteína produce pérdida de la virulencia, lo que indica alguna función esencial de este sitio de la proteína en la patogenia de la enfermedad.

Las espículas purificadas que contienen la glucoproteína viral desencadenan la producción de anticuerpos neutralizantes en los animales. El antisuero preparado contra la nucleocápside purificada se utiliza en pruebas de inmunofluorescencia diagnóstica para la rabia.

Patogenia y anatomía patológica

El virus de la rabia se multiplica en tejido muscular o conjuntivo en el lugar de inoculación y luego entra en los nervios periféricos a través de las uniones neuromusculares y se disemina por los nervios hasta el sistema nervioso central. Sin embargo, también

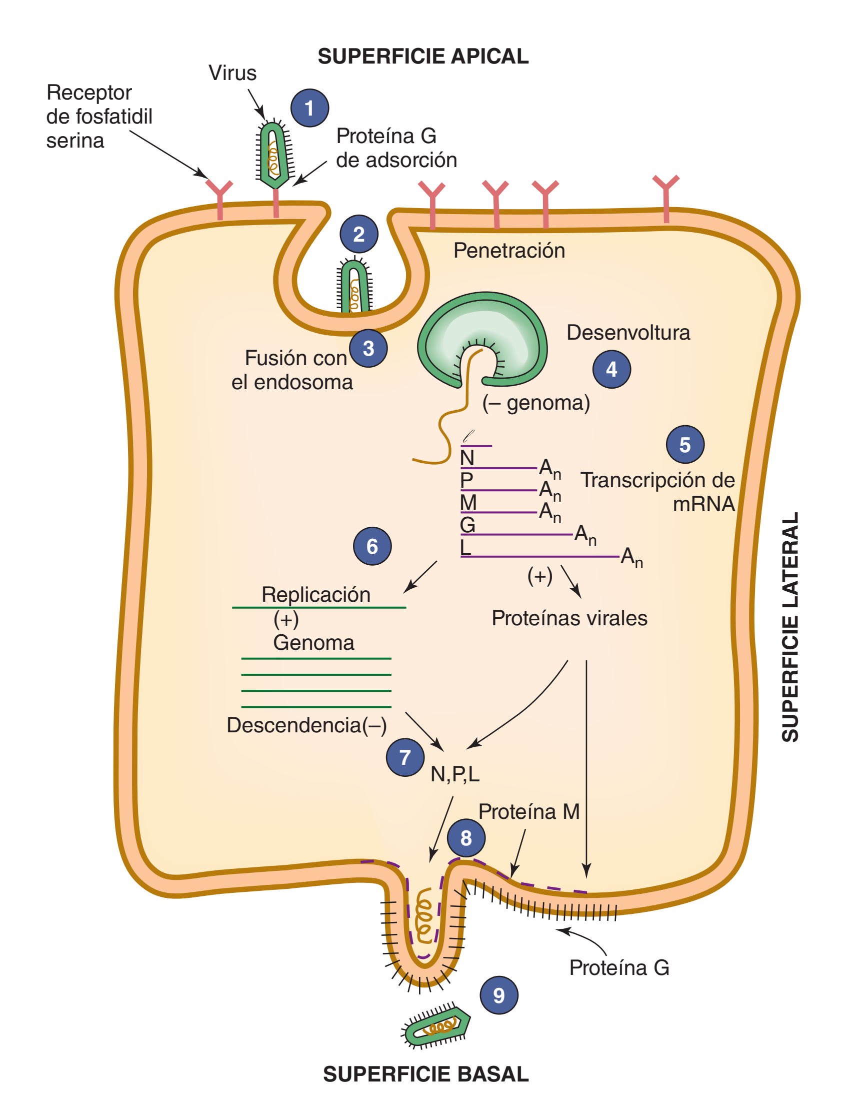


FIGURA 42-2 Pasos en la replicación de un rabdovirus: (**1**) Adherencia del virus; (**2**) penetración a un endosoma; (**3**) fusión del virus con la membrana endosómica, que libera el núcleo hacia el citoplasma; (**4**) desenvoltura de la nucleocápside; (**5**) RNA viral genómico de polaridad negativa transcrito a RNA de polaridad positiva; (**6**) RNA de polaridad positiva que sirve de plantilla para la síntesis de genoma viral, más mRNA que da origen a las proteínas virales; (**7**) el RNA de polaridad negativa se incorpora en las nucleocápsides (N); (**8**) las nucleocápsides se unen a la proteína de la matriz (M) en la superficie celular; (**9**) gemación del virus a partir de la superficie celular. (Reproducida con autorización de Levy JA, Fraenkel-Conrat H, Owens RA: Virology, 3rd ed. Prentice Hall, 1994.)

es posible que el virus de la rabia entre directamente en el sistema nervioso sin replicación local.

El virus se multiplica en el sistema nervioso central y sobreviene una encefalitis progresiva. Posteriormente se disemina a través de los nervios periféricos hacia las glándulas salivales y otros tejidos. El órgano con las concentraciones más altas del virus es la glándula salival submaxilar. Otros órganos donde se ha detectado el virus de la rabia son páncreas, riñón, corazón, retina y córnea. No se ha aislado el virus de la rabia en la sangre de personas infectadas.

La susceptibilidad a la infección y el periodo de incubación dependen de la edad del hospedador, los antecedentes genéticos y el estado inmunitario, el tipo de cepa viral, la cantidad de inóculo, la gravedad de las laceraciones y la distancia que el virus tiene que recorrer para trasladarse desde su lugar de entrada hasta el sistema nervioso central. Hay una tasa de ataque más elevada y un periodo de incubación más breve en personas mordidas en la cara o en la cabeza; la mortalidad más baja se presenta en quienes son mordidos en las piernas.

CUADRO 42-2 Susceptibilidad de animales a la rabia

Muy alta	Alta	Moderada	Baja
Zorros	Hámsters	Perros	Zarigüeyas
Coyotes	Zorrillos	Ovejas	
Chacales	Mapaches	Cabras	
Lobos	Gatos	Caballos	
Ratas algodoneras	Murciélagos	Primates no humanos	
	Conejos		
	Ganado vacuno		

Modificado de Baer GM, Bellini WJ, Fishbein DB: Rhabdoviruses. En: *Fields Virology*. Fields BN et al (editors). Raven Press, 1990.

El virus de la rabia produce una inclusión citoplásmica eosinófila específica, el cuerpo de Negri, en las células nerviosas infectadas. Los cuerpos de Negri están llenos de nucleocápsides virales. La presencia de estas inclusiones es patognomónica de la rabia pero no se observa en por lo menos 20% de los casos; por tanto, la ausencia de cuerpos de Negri no descarta rabia como diagnóstico. La importancia de la búsqueda de los cuerpos de Negri en el diagnóstico de la rabia se ha reducido por el desarrollo de las pruebas diagnósticas más sensibles como el uso de anticuerpo fluorescente y de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa.

Manifestaciones clínicas

La rabia es principalmente una enfermedad de animales inferiores y se disemina al ser humano por las mordeduras de animales rabiosos o por el contacto con la saliva de éstos. La enfermedad es una encefalitis aguda, fulminante y mortal. El periodo de incubación en el ser humano suele ser uno a dos meses, pero puede ser tan breve como una semana o tan prolongado como muchos años (hasta 19 años). Suele ser más breve en los niños que en los adultos. El cuadro clínico puede dividirse en tres fases: una fase prodrómica breve, una fase neurológica aguda y coma. El pródromo, que dura de dos a 10 días, puede mostrar cualquiera de los siguientes síntomas inespecíficos: ataque al estado general, anorexia, cefalea, fotofobia, náusea y vómito, faringitis y fiebre. Por lo general hay una sensación anormal alrededor de la herida.

Durante la fase neurológica aguda, que dura de dos a siete días, los pacientes muestran signos de disfunción del sistema nervioso como nerviosismo, aprensión, alucinaciones y conducta anormal. Se observa hiperactividad simpática general, lo que comprende lagrimeo, dilatación pupilar e incremento de la salivación y de la transpiración. Una gran fracción de los pacientes mostrará hidrofobia (temor al agua) o aerofobia (temor cuando sienten una brisa). El acto de la deglución desencadena un espasmo doloroso de los músculos de la garganta. Esta fase va seguida de convulsiones o coma y muerte. La principal causa de muerte es la parálisis respiratoria. La rabia paralítica se presenta en casi 20% de los pacientes, muy a menudo en los infectados con el virus de la rabia del murciélago. La evolución de la enfermedad es más lenta y algunos pacientes sobreviven 30 días. El restablecimiento y la supervivencia son en extremo infrecuentes.

Se debe considerar a la rabia en todo caso de encefalitis o mielitis de causa desconocida aun cuando no haya un antecedente de exposición y sobre todo en una persona que ha vivido o ha viajado fuera de Estados Unidos. La mayoría de los casos de rabia en Estados Unidos es en individuos sin exposición conocida. Debido al prolongado periodo de incubación, es posible que las personas olviden el posible incidente de exposición. Las personas que contraen rabia del murciélago a menudo no recuerdan que les haya mordido un murciélago.

El periodo de incubación habitual en los perros fluctúa de tres a ocho semanas, pero puede ser tan corto como 10 días. La enfermedad clínica en los perros se divide en las mismas tres fases que la rabia humana.

Diagnóstico de laboratorio

A. Antígenos de la rabia o ácidos nucleicos

Los tejidos infectados con el virus de la rabia en la actualidad se identifican con mayor rapidez y precisión por medio de inmunofluorescencia o con inmunoperoxidasa que utiliza anticuerpos monoclonales contra la rabia. Suele obtenerse una pieza de biopsia de la piel de la nuca en la línea de implantación del cabello. Se pueden utilizar preparaciones de impresión de tejido cerebral o corneal.

Un diagnóstico anatomopatológico definitivo de rabia se puede basar en el hallazgo de cuerpos de Negri en el cerebro o en la médula espinal. Están muy bien delimitados, son más o menos esféricos con un diámetro de 2 a 10 μm y tienen una estructura interna distintiva con gránulos basófilos en una matriz eosinófila. Los cuerpos de Negri contienen antígenos del virus de la rabia y se pueden demostrar mediante inmunofluorescencia. Tanto los cuerpos de Negri como el antígeno de la rabia por lo general se detectan en animales o humanos infectados con rabia pero es poco frecuente encontrarlos en murciélagos.

Se pueden utilizar las pruebas de transcripción acoplada a la reacción en cadena de polimerasa para amplificar partes de un genoma de virus de la rabia de tejido cerebral fijado o no fijado. Aunque es infrecuente como prueba diagnóstica, la determinación de la secuencia de los productos amplificados permite identificar la cepa del virus infectante.

B. Aislamiento del virus

El tejido disponible se inocula dentro del cerebro en los ratones lactantes. La infección en los ratones produce encefalitis y muerte. El sistema nervioso central del animal inoculado es analizado para buscar cuerpos de Negri y antígenos de la rabia. En laboratorios especializados, se inoculan líneas celulares de hámster y de ratón para la multiplicación rápida (dos a cuatro días) del virus de la rabia; esto es mucho más rápido que el aislamiento del virus en los ratones. Un virus aislado se identifica mediante la prueba de anticuerpos fluorescentes con un antisuero específico. El aislamiento del virus tarda demasiado tiempo para ayudar a tomar una decisión con respecto a si es conveniente administrar o no una vacuna.

C. Diagnóstico serológico

Los anticuerpos séricos contra la rabia se pueden detectar mediante pruebas de inmunofluorescencia o pruebas Nt. Tales anticuerpos se desarrollan con lentitud en las personas o animales infectados durante el progreso de la enfermedad pero rápidamente después de la vacunación con vacunas derivadas de células. Se producen anticuerpos en el líquido cefalorraquídeo en personas infectadas con rabia pero no en respuesta a la vacunación.

D. Observación de animales

Todos los animales que se consideren “rabiosos o sospechosos de rabia” (cuadro 42-3) deberían de sacrificarse de inmediato para el análisis de los tejidos neurales en el laboratorio. Otros animales deben retenerse para su observación durante 10 días. Si muestran algún signo de encefalitis, rabia o comportamiento inusual, deberán sacrificarse sin sufrimiento y analizarse los tejidos en el laboratorio. Si tienen aspecto normal después de 10 días, se debe tomar la decisión en forma individual con la asesoría de las autoridades de salud pública.

Inmunidad y prevención

Se conoce sólo un tipo antigénico del virus de la rabia. Más de 99% de las infecciones en seres humanos y en otros mamíferos

CUADRO 42-3 Guía para la profilaxis contra la rabia después de la exposición: Estados Unidos, 2008

Las siguientes recomendaciones son sólo una guía. Al aplicarlas hay que tomar en cuenta la especie de animal de que se trate, las circunstancias de la mordedura u otra exposición, el estado de vacunación del animal y la presentación de rabia en la región. Nota: Debe consultarse a las autoridades de salud pública locales o estatales si surgen dudas sobre la necesidad de profilaxis contra la rabia.

Tipo de animal	Valoración del animal	Tratamiento de la persona expuesta[a]
Domésticos		
Gatos, perros y hurones	Sano y disponible durante 10 días para observación	Ninguno, a menos que el animal presente síntomas de rabia
	Con rabia o sospecha de rabia	Comenzar de inmediato la profilaxis
	Desconocido (se escapó)	Consultar a las autoridades de salud pública
Silvestres		
Zorrillos, mapaches, murciélagos, zorros, coyotes y otros carnívoros	Considérese como rabioso a menos que el animal resulte negativo en los análisis de laboratorio	Evaluar profilaxis inmediata
Otros		
Ganado vacuno, roedores y lagomorfos (conejos y liebres)	Considérese en forma individual. Hay que consultar a las autoridades de salud pública locales y estatales con respecto a la necesidad de profilaxis contra la rabia. En caso de mordeduras de ardillas, hámsters, cobayos, jerbos, ardillas listadas, ratas, ratones, otros roedores, conejos y liebres, casi nunca se necesita la profilaxis contra la rabia	

Fuente: MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2008;57(RR-3):1.

[a]La profilaxis consta de limpieza inmediata y meticulosa de las heridas por mordedura y otras heridas con agua y jabón, administración de la inmunoglobulina contra la rabia y vacunación.

que desarrollan síntomas tienen un desenlace mortal. La supervivencia tras el inicio de los síntomas de rabia es en extremo rara. Por tanto, es esencial que las personas con alto riesgo reciban inmunización preventiva, que se evalúen las características y el riesgo de cualquier exposición y que las personas reciban profilaxis después de la exposición si se considera que ésta ha sido peligrosa (cuadro 42-3). Puesto que el tratamiento no tiene ninguna utilidad después de la aparición de la enfermedad clínica, es indispensable iniciar con rapidez el tratamiento después de la exposición. La profilaxis contra la rabia después de la exposición consiste en la limpieza inmediata y meticulosa de todas las heridas con agua y jabón, la administración de inmunoglobulina contra la rabia y un esquema de vacunación.

A. Fisiopatología de la rabia y prevención mediante vacuna

Supuestamente el virus debe multiplicarse en el músculo cerca del lugar de la inoculación hasta que la concentración del virus sea suficiente para lograr la infección del sistema nervioso central. Si se puede administrar con rapidez la vacuna inmunógena o el anticuerpo específico, se podrá reprimir la replicación del virus y evitar que el virus invada el sistema nervioso central. La acción del anticuerpo administrado en forma pasiva es neutralizar parte del virus inoculado y reducir la concentración del virus en el organismo, dando tiempo adicional para que una vacuna estimule la producción activa de anticuerpo y evite la entrada en el sistema nervioso central.

B. Tipos de vacunas

Todas las vacunas para uso humano contienen sólo virus de la rabia inactivado. En Estados Unidos se dispone de dos vacunas, aunque en otros países se utilizan otras diversas. Las dos vacunas contra la rabia disponibles en Estados Unidos tienen la misma eficacia y seguridad.

1. Vacuna de células diploides humanas (HDCV). Para obtener una suspensión de virus de la rabia libre del sistema nervioso y de proteínas extrañas, el virus de la rabia se multiplica en una línea de células diploides humanas MRC-5. La preparación del virus de la rabia se concentra mediante ultrafiltración y se inactiva con propiolactona β. No se ha comunicado ninguna reacción anafiláctica o encefalítica grave. Se ha utilizado esta vacuna en Estados Unidos desde 1980.

2. Vacuna de la rabia, adsorbida (RVA). En 1988 se autorizó en Estados Unidos una vacuna elaborada en una línea celular diploide derivada de células pulmonares de feto de mono rhesus. Este virus de la vacuna es inactivado con propiolactona β y se concentra mediante adsorción a fosfato de aluminio. Esta vacuna ya no está disponible en Estados Unidos (2009).

3. Vacuna purificada de células de embrión de pollo (PCEC). Esta vacuna se prepara a partir de la cepa del virus de la rabia fijado Flury LEP multiplicada en fibroblastos de pollos. Se inactiva con propiolactona β y se purifica más mediante centrifugación zonal. En 1997 comenzó a estar disponible en Estados Unidos.

4. Vacuna de tejido nervioso. Ésta se elabora a partir de cerebros de ovejas, cabras o ratones infectados y se utiliza en muchas partes del mundo, incluso en Asia, África y Sudamérica. Tiene una baja potencia por dosis y un tratamiento completo consiste en incluso 23 inyecciones dolorosas. Produce sensibilización al tejido nervioso y origina una encefalitis posvacunal (una enfermedad alérgica) con una frecuencia importante (0.05%). Las estimaciones de su eficacia en las personas mordidas por animales rabiosos varía de 5 a 50%.

5. Vacuna de embrión de pato. La vacuna de embrión de pato fue desarrollada para minimizar el problema de la encefalitis posvacunal. El virus de la rabia se multiplica en huevos de pato embrionados. Las reacciones anafilácticas son infrecuentes pero la antigenicidad de la vacuna es baja de manera que se tienen que administrar múltiples dosis (16 a 25) para obtener una

respuesta de anticuerpo satisfactoria después de la exposición. Ésta ya no se elabora.

6. Virus vivos atenuados. Los virus vivos atenuados adaptados al crecimiento en embriones de pollo (p. ej., cepa Flury) se utilizan en animales pero *no* en seres humanos. A veces tales vacunas pueden causar la muerte por rabia en gatos o perros inyectados. Los virus de la rabia multiplicados en diversos cultivos de células animales también se han utilizado como vacunas para animales domésticos.

Una vacuna viral recombinante consiste en un virus de la variolovacuna (vaccinia) que porta el gen de la glucoproteína de superficie rábica que ha inmunizado satisfactoriamente a animales después de la administración oral. Esta vacuna puede resultar útil en la inmunización de especies reservorios silvestres y de animales domésticos.

C. Tipos de anticuerpo de la rabia

1. Inmunoglobulina de la rabia, humana (HRIG). HRIG es una gammaglobulina preparada mediante fraccionamiento en etanol frío a partir del plasma de seres humanos hiperinmunizados. Se presentan menos reacciones adversas a la inmunoglobulina de la rabia humana que al suero antirrábico equino.

2. Suero antirrábico equino. Éste es un suero concentrado de caballos hiperinmunizados con el virus de la rabia. Se ha utilizado en países donde no se dispone de la inmunoglobulina de la rabia humana.

D. Profilaxis previa a la exposición

Ésta se utiliza en personas con alto riesgo de contacto con el virus de la rabia (personal de investigación y de laboratorio diagnóstico, espeleólogos) o con animales rabiosos (veterinarios, personal de control de animales y de la vida silvestre). El objetivo es lograr una concentración de anticuerpo que se supone sea protectora por medio de la administración de la vacuna antes de cualquier exposición. Se recomienda que se vigilen periódicamente los títulos de anticuerpo de personas vacunadas y que se administren refuerzos cuando sea necesario.

E. Profilaxis después de la exposición

Aunque se presentan pocos casos (0 a 5) de la rabia humana en Estados Unidos por año, más de 20 000 personas reciben algún tratamiento cada año por una posible exposición por mordedura. La decisión para administrar anticuerpo de la rabia, vacuna de la rabia, o ambos, depende de varios factores: 1) las características del animal que mordió (especie, estado de salud, doméstico o salvaje) y su estado de vacunación; 2) la disponibilidad de animales para análisis de laboratorio (*todas* las mordeduras de animales salvajes y murciélagos requieren inmunoglobulina y vacuna de la rabia); 3) la existencia de rabia en la zona; 4) la forma del ataque (provocado o no provocado); 5) la gravedad de la mordedura y la contaminación por saliva del animal, y 6) la asesoría de las autoridades de salud pública locales (cuadro 42-3). Los esquemas para la profilaxis después de la exposición que comprenden la administración de inmunoglobulina de la rabia y la vacuna se pueden obtener en los *Centers for Disease Control and Prevention* y en las oficinas locales de salud pública.

Epidemiología

Se considera que la rabia es la décima causa más frecuente de muerte en seres humanos por infecciones.

La rabia es enzoótica tanto en animales silvestres como domésticos. En todo el mundo, cada año se presentan por lo menos 50 000 casos de rabia humana; sin embargo, la rabia no se notifica como se debiera en muchos países. Casi todas las muertes por rabia (>99%) ocurren en los países en vías de desarrollo y en Asia se producen más de 90% de todos los fallecimientos por rabia. En estos países, donde la rabia canina todavía es endémica, casi todos los casos humanos se presentan por mordeduras de perros rabiosos. Los niños de 5 a 15 años de edad tienen un mayor riesgo. Se estima que unos 10 millones de personas reciben cada año profilaxis después de la exposición.

En Estados Unidos, Canadá y Europa occidental, donde se ha controlado la rabia canina, los perros son causa de muy pocos casos. En cambio, la rabia humana se presenta por mordedura de animales silvestres (sobre todo murciélagos, mapaches, zorrillos y zorros) o se presenta en viajeros mordidos por perros en otras partes del mundo. El problema más importante en el ganado al parecer es la rabia transmitida por murciélagos hematófagos en Latinoamérica. El incremento de la rabia silvestre en Estados Unidos y en algunos otros países desarrollados plantea un mucho mayor riesgo para el ser humano que los perros o los gatos.

La frecuencia de la rabia en Estados Unidos disminuyó a menos de tres personas por año durante la década de 1990 principalmente a consecuencia del control satisfactorio de la rabia en perros domésticos.

El análisis antigénico con anticuerpos monoclonales y genotipificación mediante análisis de secuencia de nucleótido permite distinguir cepas del virus de la rabia de diferentes reservorios animales. De 1990 a 2003 hubo 35 casos de rabia humana diagnosticados en Estados Unidos, de los cuales se comprobó que 26 (74%) fueron por el virus relacionado con el virus de los murciélagos. Cinco pacientes con rabia importada tenían cepas relacionadas con los perros.

Los mapaches son un reservorio importante de la rabia en Estados Unidos y contribuyen a más de la mitad de todos los casos notificados de rabia en animales. Se considera que la rabia de los mapaches se introdujo en la región del Atlántico medio en la década de 1970, donde los mapaches infectados fueron transportados allí desde el sureste de Estados Unidos para restituir las poblaciones de caza. La epizootia de la rabia de los mapaches se ha diseminado y ahora abarca la parte oriental de Estados Unidos y parte de Canadá.

Los murciélagos presentan un problema especial porque pueden portar el virus de la rabia y aunque tengan aspecto sano, lo pueden excretar en la saliva y transmitirlo a otros animales y al ser humano. Entre los casos de rabia humana en Estados Unidos atribuidos a variantes relacionadas con el murciélago, casi 70% era causado por el murciélago de pelo plateado y variantes de murciélago enano oriental. Sin embargo, sólo dos casos se relacionaron con un antecedente de mordedura de murciélago, ya que la mayor parte de las exposiciones al murciélago pasan inadvertidas. Las cavernas de murciélagos pueden contener aerosoles del virus de la rabia y plantear un riesgo para los espeleólogos. Existen murciélagos migratorios que comen frutas en muchos países y son una fuente de infección para muchos animales y seres humanos. La rabia del murciélago es importante en el inicio de las enzootias terrestres en nuevas regiones. En 1996

se descubrió que Australia, por mucho tiempo considerada un continente sin rabia, alberga el virus de la rabia en murciélagos de la fruta. Todas las personas mordidas por murciélagos deben recibir profilaxis contra la rabia después de la exposición.

La rabia transmitida entre seres humanos es muy infrecuente. Los únicos casos documentados fueron los de la rabia transmitida por trasplantes de córnea y de órganos. Un ejemplo son los trasplantes corneales, las córneas se derivaban de donadores que murieron con enfermedades del sistema nervioso central no diagnosticadas y los receptores fallecieron por rabia 50 a 80 días después. El primer caso documentado en el que estaban implicados los trasplantes de órganos sólidos se presentó en Estados Unidos en 2004. El hígado y los riñones de un solo donador fueron trasplantados en tres receptores, los cuales fallecieron de rabia confirmada cinco a siete semanas más tarde. La transmisión posiblemente ocurrió a través del tejido neuronal en los órganos trasplantados, ya que el virus de la rabia no se disemina en la sangre. Teóricamente, la rabia podría originarse de la saliva de un paciente que tiene rabia y que expone al personal que lo atiende, pero tal transmisión nunca se ha documentado.

Tratamiento y control

No se dispone de un tratamiento satisfactorio para la rabia clínica. Se ha demostrado que los interferones, la ribavirina y otros fármacos no tienen efectos útiles. El tratamiento sintomático puede prolongar la vida, pero el resultado casi siempre es letal.

Históricamente, varios acontecimientos decisivos han contribuido al control de la rabia humana: el desarrollo de una vacuna contra la rabia humana (1885), el descubrimiento de los cuerpos de Negri diagnósticos (1903), el empleo de vacunas contra la rabia en los perros (década de 1940), la adición de inmunoglobulina de la rabia a los tratamientos de vacunación después de la exposición en seres humanos (1954), el crecimiento del virus de la rabia en cultivos celulares (1958) y el desarrollo de pruebas diagnósticas con anticuerpos fluorescentes (1959).

Es deseable la vacunación después de la exposición en todas las personas que tienen un riesgo elevado de contacto con animales rabiosos, como veterinarios, personal que atiende a animales, determinado personal de laboratorio y espeleólogos. Las personas que viajan a los países en vías de desarrollo donde los programas de control de la rabia para animales domésticos no son óptimos deben recibir profilaxis antes de la exposición si piensan permanecer por más de 30 días. Sin embargo, dicha profilaxis no elimina la necesidad de la profilaxis inmediata después de la exposición cuando se tiene contacto con la rabia.

Los países aislados (p. ej., Gran Bretaña) que no tienen rabia nativa en animales silvestres pueden establecer procedimientos de cuarentena para perros y otras mascotas que se importan. En los países donde existe la rabia canina se deben sacrificar los animales callejeros y debe ser obligatoria la vacunación de perros y gatos que son mascotas. En los países donde existe rabia en el mundo animal y donde es inevitable el contacto con animales domésticos, mascotas y animales silvestres, se debe vacunar a todos los animales domésticos y mascotas.

Una vacuna oral usando glucoproteína recombinante de virus de la rabia expresada en el virus variolovacuna (vaccinia) (V-RG) resultó eficaz para controlar la rabia en zorros en Europa. Añadida a cebos, la vacuna oral se está utilizando para controlar las epizootias de la rabia en animales salvajes en Estados Unidos.

ENFERMEDAD DE BORNA

La enfermedad de Borna es una enfermedad del sistema nervioso central que afecta principalmente a los caballos y las ovejas en algunas regiones de Alemania y que se manifiesta por anomalías en el comportamiento que por lo general terminan con la muerte del animal. Se presentan infiltrados de células inflamatorias en el cerebro. El trastorno es mediado por factores inmunitarios.

El virus de la enfermedad de Borna (BDV, *Borna disease virus*) es un virus RNA con envoltura, no segmentado de polaridad negativa de la familia **Bornaviridae** (cuadro 42-4). Aunque es similar a los rabdovirus y a los paramixovirus, el BDV es novedoso porque transcribe y replica su genoma en el núcleo y utiliza el procesamiento del RNA (RNA splicing) para la regulación de la expresión de sus genes. El BDV no es citolítico y es muy neurotrópico; establece infecciones persistentes. Hay un solo serotipo reconocido de BDV. Los títulos de anticuerpos neutralizantes producidos en especies hospedadoras suelen ser muy bajos.

Muchas especies se pueden infectar por los bornavirus, incluido el ser humano. Los datos serológicos indican que el BDV puede relacionarse con trastornos neuropsiquiátricos en seres humanos, aunque aún no se ha establecido si el BDV interviene en la fisiopatología de determinados trastornos mentales en el ser humano.

INFECCIONES POR VIRUS LENTOS Y ENFERMEDADES PRIÓNICAS

Algunas enfermedades crónicas degenerativas del sistema nervioso central en el ser humano son causadas por infecciones "lentas" o crónicas, persistentes, producidas por virus clásicos. Entre ellas están la panencefalitis esclerosante subaguda y la leucoencefalopatía multifocal progresiva. Otras enfermedades conocidas como encefalopatías espongiformes transmisibles; p. ej., la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD, *Creutzfeldt-Jakob disease*) son causadas por agentes transmisibles no convencionales denominados "priones" (cuadro 42-5). Las enfermedades neurológicas progresivas que producen estos agentes pueden tener periodos de incubación de años antes de que las manifestaciones clínicas de la infección se hagan evidentes (cuadro 42-5).

CUADRO 42-4 Propiedades importantes de los bornavirus

Virión: Esférico, de 90 nm de diámetro
Genoma: RNA monocatenario, lineal, no segmentado, de polaridad negativa, de 8.9 kb y de PM de 3 millones
Proteínas: Seis proteínas estructurales
Envoltura: Presente
Replicación: Núcleo; lugar de maduración no identificado
Características sobresalientes: Amplia gama de operadores Neurotrópico Causa anomalías neuroconductuales

CUADRO 42-5 Enfermedades por virus lentos y enfermedades priónicas

Enfermedad	Agente	Hospedadores	Periodo de incubación	Naturaleza de la enfermedad
Enfermedades de seres humanos				
Panencefalitis esclerosante subaguda	Variante del virus del sarampión	Seres humanos	2 a 20 años	Panencefalitis esclerosante crónica
Leucoencefalopatía multifocal progresiva	JCV por poliomavirus	Seres humanos	Años	Desmielinización del sistema nervioso central
CJD	Prión	Seres humanos, chimpancés, monos	Meses a años	Encefalopatía espongiforme
CJD variante[a]	Prión	Seres humanos, ganado vacuno	Meses a años	Encefalopatía espongiforme
Kuru	Prión	Seres humanos, chimpancés, monos	Meses a años	Encefalopatía espongiforme
Enfermedades de animales				
Visna	Retrovirus	Ovejas	Meses a años	Desmielinización del sistema nervioso central
Escrapie de las ovejas	Prión	Ovejas, cabras, ratones, cobayos	Meses a años	Encefalopatía espongiforme
Encefalopatía espongiforme bovina	Prión	Ganado vacuno	Meses a años	Encefalopatía espongiforme
Encefalopatía transmisible del visón	Prión	Visón, otros animales	Meses	Encefalopatía espongiforme
Enfermedad debilitante crónica	Prión	Ciervo macho, alce	Meses a años	Encefalopatía espongiforme

CJD, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

[a]Relacionada con la exposición al material contaminado con encefalopatía espongiforme bovina.

Infecciones por virus lentos

A. Visna

Los **virus visna** y de la **neumonía progresiva (maedi)** son agentes muy relacionados que producen infecciones de desarrollo lento en las ovejas. Estos virus se clasifican como retrovirus (género *Lentivirus*; véase capítulo 44).

El virus visna infecta todos los órganos del cuerpo de las ovejas infectadas; sin embargo, los cambios anatomopatológicos están circunscritos principalmente al cerebro, los pulmones y el sistema reticuloendotelial. Se presentan lesiones inflamatorias en el sistema nervioso central poco después de la infección, pero suele haber un periodo de incubación prolongado (meses a años) antes de que aparezcan síntomas neurológicos observables. La evolución de la enfermedad puede ser rápida (semanas) o lenta (años).

El virus puede aislarse durante la vida del animal, pero la expresión viral se restringe *in vivo* de manera que sólo hay presentes cantidades mínimas del virus infeccioso. La variación antigénica ocurre durante las infecciones persistentes a largo plazo. Muchas mutaciones ocurren en el gen estructural que codifica las glucoproteínas de la envoltura viral. Los animales infectados desarrollan anticuerpos contra el virus.

B. Panencefalitis esclerosante subaguda

Ésta es una enfermedad infrecuente de adultos jóvenes causada por el virus del sarampión con una desmielinización progresiva lenta del sistema nervioso central que provoca el fallecimiento de la persona (cap. 40). Un gran número de estructuras de la nucleocápside viral es producido en las neuronas y en las células de la neuroglia. Hay una expresión restringida de los genes virales que codifican las proteínas de la envoltura, de manera que el virus en las células neurales con infección persistente carece de las proteínas necesarias para producir las partículas infecciosas. Los pacientes con panencefalitis esclerosante subaguda tienen títulos altos de anticuerpos contra el sarampión pero a menudo se carece del anticuerpo contra la proteína M. La eficacia reducida de la transcripción del virus del sarampión en las células cerebrales diferenciadas es importante para mantener la infección persistente que desencadena la panencefalitis esclerosante subaguda.

C. Leucoencefalopatía multifocal progresiva

El virus JC (JCV), un miembro de la familia **Polyomaviridae** (cap. 43), es el agente causal de la leucoencefalopatía multifocal progresiva, una complicación del sistema nervioso central que ocurre en algunas personas inmunodeprimidas. La enfermedad en un tiempo fue muy infrecuente y ocurre en una proporción importante (alrededor de 5%) de los pacientes con SIDA; sin embargo, puesto que los antivirales hacen más lento el avance de las infecciones por el virus de la inmunodeficiencia humana, menos pacientes presentan esta enfermedad. La desmielinización del sistema nervioso central de los pacientes con leucoencefalopatía multifocal progresiva se debe a la infección oligodendrocítica por los poliomavirus.

Encefalopatías espongiformes transmisibles (enfermedades priónicas)

Las enfermedades degenerativas del sistema nervioso central (kuru, CJD, síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, insomnio familiar mortal del ser humano, escrapie [rascado] de las ovejas, la encefalopatía transmisible del visón, la encefalopatía espongiforme bovina y la enfermedad debilitante crónica de los ciervos) tienen características patológicas similares. Estas

enfermedades se describen como encefalopatías espongiformes transmisibles. Los agentes causales no son virus comunes; la infectividad se relaciona con material proteináceo desprovisto de cantidades detectables de ácido nucleico. Se utiliza el término "**prión**" para designar esta nueva clase de agentes.

Los diferentes tipos de priones al parecer tienen mecanismos patógenos comunes. Existen barreras de especies para todas las encefalopatías espongiformes transmisibles, pero algunos priones han cruzado tales barreras.

Estos agentes son extraordinariamente resistentes a los medios habituales de inactivación. Son resistentes al tratamiento con formaldehído (3.7%), urea (8 M), calor seco, ebullición, etanol (50%), proteasas, desoxicolato (5%) y radiación ionizante. Sin embargo, son sensibles al fenol (90%), blanqueador doméstico, éter, NaOH (2 N), detergentes potentes (sulfato de dodecilo sódico al 10%) y autoclave (una hora a 121°C). El tiocianato de guanidina es muy eficaz para descontaminar los aditamentos e instrumentos médicos.

Las enfermedades causadas por estos agentes no habituales tienen varios datos característicos distintivos. Aunque el agente etiológico puede aislarse de otros órganos, las enfermedades están circunscritas al sistema nervioso. Las manifestaciones básicas son neurodegeneración y cambios espongiformes. Es posible que existan placas de amiloide. Los periodos de incubación prolongados (meses a décadas) preceden el inicio de la enfermedad clínica y van seguidos de una enfermedad progresiva crónica (semanas a años). Las enfermedades siempre son mortales y no se conocen casos de remisión o recuperación. El hospedador no muestra ninguna respuesta inflamatoria y ninguna respuesta inmunitaria (estos agentes no parecen ser antigénicos); no se desencadena la producción de interferón; y no hay ningún efecto sobre la función del linfocito B o el linfocito T del hospedador. La inmunodepresión del hospedador no tiene ningún efecto en la patogenia; sin embargo, la inflamación crónica provocada por otros factores (virus, bacterias, autoinmunidad) puede afectar la patogenia del prión. Se ha observado que los priones se acumulan en órganos con inflamación linfocítica crónica. Cuando coinciden con nefritis, se excretan priones en la orina.

A. Escrapie de las ovejas

El escrapie de las ovejas muestra notables diferencias en la susceptibilidad de diferentes razas de animal. La susceptibilidad al escrapie de las ovejas transmitido en forma experimental varía de 0 a más de 80% en diversas razas de ovejas, en tanto que las cabras son casi 100% susceptibles. La transmisión del escrapie de las ovejas a ratones y hámster, en los cuales se reduce bastante el periodo de incubación, ha facilitado el estudio de la enfermedad.

La infecciosidad puede recuperarse de los tejidos linfoides en las primeras etapas de la infección y se encuentran altos títulos del agente en cerebro, médula espinal y ojos (los únicos lugares donde se observan los cambios patológicos). Asimismo, se ha detectado la infecciosidad del prión en la leche de ovejas que incuban la enfermedad en su forma natural. Los títulos máximos de infecciosidad se alcanzan en el cerebro mucho antes de que aparezcan los síntomas neurológicos. La enfermedad se caracteriza por la aparición de placas amiloides en el sistema nervioso central de los animales infectados. Estas zonas representan acumulaciones extracelulares de proteína; se tiñen con rojo Congo.

Es posible purificar una proteína de masa molecular de 27 a 30 kDa, resistente a la proteasa, proveniente del cerebro infectado de escrapie de las ovejas y se designa proteína priónica PrP. Las preparaciones que contienen sólo PrP y ningún ácido nucleico detectable son infecciosas. La PrP se deriva de una proteína más grande codificada por el hospedador, la PrP^{Sc}, que es una versión alterada de la proteína celular normal (PrP^{C}). La proteína es una proteína de membrana anclada a un glucolípido. La concentración de PrP^{Sc} aumenta en los cerebros infectados porque la proteína se vuelve resistente a la degradación. La susceptibilidad genética al escrapie de las ovejas se relaciona con mutaciones puntuales en el gen de la PrP^{C}, y los ratones genéticamente alterados desprovistos de PrP^{C} son resistentes al escrapie de las ovejas. Un modelo de configuración de la replicación priónica propone que la PrP^{Sc} forma un heterodímero con PrP^{C} y lo dobla de manera que se vuelve semejante a PrP^{Sc}. Se especula que las "cepas" de priones reflejan diferentes conformaciones de PrP^{Sc}. No se ha determinado si esta proteína representa el elemento estructural esencial del agente infeccioso o un producto patológico que se acumula como resultado de la enfermedad; sin embargo, la proteína priónica murina producida en las bacterias causó la enfermedad cuando se inoculó *in vivo*, lo que indica que los priones son proteínas infecciosas.

B. Encefalopatía espongiforme bovina y nueva variante de CJD

Una enfermedad similar a escrapie de las ovejas, designada encefalopatía espongiforme bovina (BSE, *bovine spongiform encephalopathy*) o "enfermedad de las vacas locas", surgió en el ganado en Gran Bretaña en 1986. Este brote epidémico fue rastreado al empleo de alimento de ganado que contenía hueso molido contaminado proveniente de ovejas infectadas con escrapie de las ovejas y cadáveres de ganado infectados con BSE. El empleo de tal alimento para ganado fue prohibido en 1988. La epidemia de la "enfermedad de las vacas locas" alcanzó su máximo en Gran Bretaña en 1993. Se estima que se infectó más de 1 millón de cabezas de ganado. Asimismo, se ha detectado BSE en otros países europeos. En 1996, se reconoció una nueva variante de la CJD en el Reino Unido que ocurría en personas más jóvenes y que tenía características patológicas distintivas similares a las de la BSE. En la actualidad se acepta que las formas variantes nuevas de CJD y BSE son causadas por un agente común, lo que indica que el agente de la BSE había infectado a seres humanos. Durante todo 2006, a más de 150 personas se les había diagnosticado la nueva variante de CJD en Inglaterra y la mayoría había fallecido. Al parecer, un polimorfismo específico en la secuencia de aminoácidos de la proteína priónica humana influye en la susceptibilidad a la enfermedad.

C. Kuru y CJD clásica

Dos encefalopatías espongiformes humanas son el kuru y la forma clásica de la CJD. Los homogeneizados de cerebro de los pacientes han transmitido las dos enfermedades a primates no humanos. El kuru ocurrió sólo en las tierras altas orientales de Nueva Guinea y se propagó por las costumbres de canibalismo ritual de los parientes muertos. Desde que ha cesado esta práctica, la enfermedad ha desaparecido. La CJD en el ser humano se presenta en forma gradual con demencia progresiva, ataxia y mioclono y produce la muerte del paciente en un lapso de cinco a 12 meses. La CJD esporádica ocurre con una frecuencia de aproximadamente un caso por millón por año en Estados Unidos y Europa y afecta a pacientes mayores de 50 años de edad. La incidencia estimada es inferior

a un caso por 200 millones para las personas menores de 30 años de edad. Sin embargo, la nueva variante de la CJD vinculada a la BSE (mencionada anteriormente) ha afectado principalmente a personas menores de 30 años de edad.

Dos formas familiares de la CJD son el síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker y el insomnio familiar mortal. Estas enfermedades son infrecuentes (10 a 15% de los casos de CJD) y se deben a la herencia de mutaciones en el gen de la PrP.

La CJD yatrógena se ha transmitido en forma accidental por preparados de hormona de crecimiento contaminada proveniente de hipófisis de cadáveres humanos, por trasplante de córnea, por instrumentos quirúrgicos contaminados y por injertos de duramadre humana de cadáver que se utiliza para la reparación quirúrgica de lesiones craneales. Al parecer los receptores de injertos de duramadre contaminados siguen teniendo riesgo de presentar CJD durante más de 20 años después de recibir los injertos. En la actualidad no hay indicios de transmisión de la CJD por la sangre o por los hemoderivados, aunque existe la posibilidad.

Una proteína muy similar a la PrP^{Sc} del escrapie de las ovejas está presente en el tejido cerebral infectado con CJD clásica. Se ha especulado que el agente de la CJD se derivó originalmente de ovejas infectadas con escrapie de las ovejas y se transmitió al ser humano por la ingestión de cerebros de ovejas mal cocidos.

D. Enfermedad debilitante crónica

Una enfermedad parecida al escrapie de las ovejas, designada enfermedad consuntiva crónica, se presenta en el ciervo macho y en el alce en Estados Unidos. Se transmite lateralmente con una gran eficiencia, pero no hay indicios de que se haya transmitido al ser humano. Se ha detectado la infecciosidad en la saliva de ciervos infectados con enfermedad consuntiva crónica.

E. Enfermedad de Alzheimer

Hay algunas similitudes neuropatológicas entre la CJD y la enfermedad de Alzheimer, como lo es la aparición de placas amiloides. Sin embargo, la enfermedad no se ha transmitido en forma experimental a primates o roedores y el material amiloide en los cerebros de los pacientes con enfermedad de Alzheimer no contiene proteína PrP^{Sc}.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. El virus de la rabia es destruido rápidamente por
   (A) Radiación ultravioleta
   (B) Calentamiento a 56°C durante 1 h
   (C) Tratamiento con éter
   (D) Tratamiento con tripsina
   (E) Todas las anteriores
2. Los priones son fácilmente destruidos por
   (A) Radiación ionizante
   (B) Formaldehído
   (C) Ebullición
   (D) Proteasas
   (E) Ninguno de los anteriores
3. ¿De cuál de las siguientes infecciones del sistema nervioso central es característica la presencia de cuerpos de inclusión citoplásmicos eosinófilos, en las neuronas, denominados cuerpos de Negri, en las neuronas?
   (A) Enfermedad de Borna
   (B) Rabia
   (C) Panencefalitis esclerosante subaguda
   (D) Nueva variante de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob
   (E) Encefalitis posvacunal
4. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones en torno a las vacunas contra la rabia en el ser humano es correcta?
   (A) Contiene virus de la rabia vivos atenuados
   (B) Contiene múltiples tipos antigénicos del virus de la rabia
   (C) Puede causar encefalitis alérgica cuando se prepara a partir de tejido nervioso
   (D) Se puede utilizar sólo para la profilaxis previa a la exposición
   (E) La vacuna de embrión de pato es muy antigénica y sólo se necesita una sola dosis
5. Un varón de 22 años de edad es residente de un pequeño pueblo cercano a Londres. Le gusta comer bistec. Presenta una enfermedad neurológica progresiva grave caracterizada por síntomas psiquiátricos, signos cerebelosos y demencia. Se diagnostica una probable encefalopatía espongiforme bovina (BSE). Una nueva variante de la enfermedad Creutzfeldt-Jakob en seres humanos y la BSE al parecer se deben al mismo agente etiológico. ¿Cuál de las siguientes aseveraciones es cierta con respecto a las dos enfermedades?
   (A) La inmunodepresión del hospedador es un factor predisponente
   (B) Es un trastorno neurológico degenerativo mediado por factores inmunitarios
   (C) Hay un largo periodo de incubación (meses a años) desde el momento de la exposición hasta la aparición de los síntomas
   (D) El agente etiológico se puede aislar sólo en el sistema nervioso central de un hospedador infectado
   (E) La respuesta de interferón persiste durante todo el periodo de incubación
   (F) Hay una respuesta de anticuerpo con títulos altos hacia la proteína PrP^{Sc} del agente
6. El virus de la rabia tiene una amplia gama de hospedadores y la capacidad para infectar a todos los animales de sangre caliente, incluidos los seres humanos. ¿Cuál aseveración sobre la epidemiología de la rabia humana es correcta?
   (A) En África se presenta la mayor parte de los decesos por rabia
   (B) Las mordeduras de perro producen gran parte de los casos de rabia humana en Inglaterra
   (C) Los animales domésticos son la fuente de casi todos los casos de rabia humana en Estados Unidos
   (D) La transmisión de la rabia entre los humanos hace que el personal médico tenga un riesgo importante
   (E) La rabia de murciélago produjo la mayor parte de los casos de rabia humana en Estados Unidos en la década de 1990
7. Se puede detectar el agente infeccioso causante del escrapie de las ovejas en las placas de amiloide de cerebros infectados de ovejas y cobayos. ¿Cuál de los siguientes tipos de ácido nucleico caracteriza al genoma del agente infeccioso?
   (A) RNA monocatenario de polaridad negativa
   (B) RNA de interferencia pequeño, el RNA infeccioso más pequeño conocido
   (C) Copia de DNA del genoma de RNA, integrada en el DNA mitocondrial
   (D) DNA circular monocatenario
   (E) Ningún ácido nucleico detectable
8. Un varón de 49 años de edad acude al neurólogo después de dos días de presentar dolor creciente en el brazo derecho y parestesias. El neurólogo diagnosticó una neuropatía atípica. Los síntomas aumentaron y se acompañaron de espasmos de la mano y transpiración en el lado derecho de la cara y el tronco. El paciente fue

ingresado en el hospital un día después de presentar disfagia, hipersalivación, agitación y espasmos musculares generalizados. Los signos vitales y las pruebas sanguíneas fueron normales, pero a las pocas horas el paciente presentó confusión. El neurólogo interconsultor sospechó rabia. Se administró inmunoglobulina y vacuna contra la rabia y aciclovir. Al paciente se le aplicó ventilación mecánica al siguiente día. Presentó insuficiencia renal y falleció tres días más tarde. Los resultados del análisis de la rabia fueron positivos. La esposa del paciente informó que éste no había sufrido ninguna mordedura de perro o de animales salvajes. La explicación más plausible de la ineficacia del tratamiento es

(A) Los resultados de la prueba de la rabia fueron falsamente positivos y el paciente no tenía rabia
(B) El tratamiento se inició después de la aparición de los síntomas de rabia
(C) La vacuna estaba dirigida contra la rabia del perro y el paciente estaba infectado con rabia del murciélago
(D) No debió haberse administrado inmunoglobulina de la rabia pues interfirió con la vacuna
(E) Los interferones (y no el esquema de tratamiento administrado) constituyen el tratamiento de elección una vez que se presentan los síntomas de la rabia

9. ¿Cuál de los siguientes animales se notifica como rabioso con más frecuencia en Estados Unidos?
(A) Ardillas
(B) Mapaches
(C) Conejos
(D) Cerdos
(E) Ratas

10. Un corredor notifica una “mordedura no provocada” de un perro de su vecindario. Las autoridades de control de animales capturaron al perro y tenía aspecto sano. ¿Cuál es la acción apropiada?
(A) Confinar y observar al perro durante 10 días para ver si presenta signos sugestivos de rabia
(B) Comenzar la profilaxis posexposición de esta persona mordida
(C) Inmediatamente sacrificar al perro
(D) Puesto que se ha eliminado la rabia canina en Estados Unidos, las mordeduras de perro ya no son una indicación para la profilaxis después de la exposición y no se necesita ninguna otra medida
(E) Evaluar al perro para ver si tiene anticuerpo contra la rabia

Respuestas

1. E	4. C	7. E	10. A
2. E	5. C	8. B	
3. B	6. E	9. B	

BIBLIOGRAFÍA

Beisel CE, Morens DM: Variant Creutzfeldt-Jakob disease and the acquired and transmissible spongiform encephalopathies. Clin Infect Dis 2004;38:697. [PMID: 14986255]

Compendium of animal rabies prevention and control, 2008. National Association of State Public Health Veterinarians, Inc. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2008;57(RR-2):1.

De Serres G et al: Bat rabies in the United States and Canada from 1950 through 2007: Human cases with and without bat contact. Clin Infect Dis 2008;46:1329. [PMID: 18419432]

Human rabies prevention—United States, 2008. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2008;57(RR-3):1.

Jackson AC, Fu ZF: Pathogenesis of rabies—Editorial. J Neurovirol 2005;11:74.

Lyles DS, Rupprecht CE: Rhabdoviridae. In: *Fields Virology,* 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Mabbott NA, MacPherson GG: Prions and their lethal journey to the brain. Nature Rev Microbiol 2006;4:201. [PMID: 16462753]

Priola SA: How animal prions cause disease in humans. Microbe 2008;3:568.

Rabies vaccines: WHO position paper. Weekly Epidemiol Record 2007;82:425.

Rutala WA, Weber DJ: Creutzfeldt-Jakob disease: Recommendations for disinfection and sterilization. Clin Infect Dis 2001;32:1348. [PMID: 11303271]

Staeheli P et al: Epidemiology of Borna disease virus. J Gen Virol 2000;81:2123. [PMID: 10950968]



CAPÍTULO

43

Virus que causan cáncer en el ser humano

Los virus son factores etiológicos en el desarrollo de diversos tipos de tumores en el ser humano, incluidos dos de gran importancia mundial: cáncer cervicouterino y cáncer hepático. Cuando menos 15 a 20% de los tumores del hombre en el mundo tienen una causa viral. En el cuadro 43-1 se enumeran los virus que más se han vinculado con cánceres en el hombre. Comprenden al papilomavirus humano (HPV), virus de Epstein-Barr (EBV), herpesvirus humano 8, virus de hepatitis B, virus de hepatitis C y dos retrovirus humanos, además de diversos virus que quizá causan cáncer en el hombre. Gracias a las técnicas moleculares ha sido posible descubrir nuevos virus vinculados con el cáncer. Muchos virus provocan tumores en los animales, ya sea como consecuencia de la infección natural o después de su inoculación experimental.

Los virus de los animales se estudian para conocer la manera como una pequeña cantidad de información genética (uno o unos cuantos genes virales) alteran profundamente el comportamiento de la proliferación celular, convirtiendo en definitiva a una célula normal en una célula neoplásica. Estos estudios revelan un entendimiento profundo sobre la regulación de la proliferación en las células normales. Los virus oncógenos son aquellos que producen tumores cuando infectan a los animales adecuados. Se han realizado numerosos estudios utilizando células animales en cultivo en lugar de los animales completos, lo que permite analizar sucesos a nivel tanto celular como subcelular. En estos cultivos celulares, los virus oncógenos provocan una "transformación". Sin embargo, es indispensable contar con estudios en animales para analizar muchos de los pasos en la carcinogénesis, incluida una serie de interacciones complejas entre los virus y el hospedador y las respuestas del hospedador a la formación de tumores.

Los estudios con virus de RNA oncógenos revelan la participación de oncogenes celulares en las neoplasias; los virus de DNA oncógenos permitieron establecer la participación de los genes supresores de tumores celulares. Estos descubrimientos revolucionaron la biología del cáncer y proporcionaron el marco conceptual para la base molecular de la carcinogénesis.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA CARCINOGÉNESIS VIRAL

Los principios de la carcinogénesis viral se resumen en el cuadro 43-2.

Los virus oncógenos son de diversos tipos

Al igual que otros virus, los virus oncógenos se clasifican en diversas familias en función del ácido nucleico de su genoma y las características biofísicas de sus viriones. La mayor parte de los virus oncógenos conocidos posee un genoma de DNA o genera un provirus de DNA después de infectar a las células (una excepción es el virus de la hepatitis C).

Los virus de DNA oncógenos se clasifican dentro de los grupos papiloma, polioma, adeno, herpes, hepadna y poxvirus; codifican oncoproteínas virales que son importantes para la replicación viral, pero también repercuten en las vías que regulan la proliferación celular.

La mayor parte de los virus de RNA oncógenos pertenece a la familia de retrovirus. Los retrovirus poseen una RNA polimerasa dirigida por el RNA (transcriptasa inversa) que construye una copia de DNA del genoma viral de RNA. Esta copia de DNA (provirus) se integra en el DNA de la célula hospedadora infectada y a partir de esta copia integrada de DNA se forman todas las proteínas del virus.

Los virus de RNA oncógenos son de dos tipos generales según la inducción del tumor. Los virus altamente oncógenos (transformación directa) poseen un oncogén de origen celular. Los virus débilmente oncógenos (transformación lenta) no contienen un oncogén e inducen leucemias después de un periodo prolongado de incubación por mecanismos indirectos. Los dos retrovirus conocidos que causan cáncer en el humano actúan de manera indirecta. El virus de la hepatitis C, un flavivirus, no genera un provirus y al parecer induce el cáncer en forma indirecta.

Múltiples pasos de la carcinogénesis

La carcinogénesis es un proceso de pasos múltiples, es decir, se necesitan múltiples cambios genéticos múltiples para convertir a una célula normal en una maligna. Se han identificado varias fases intermedias designadas por medio de términos como "inmortalización", hiperplasia y preneoplásica. Los tumores por lo general se desarrollan lentamente y por periodos largos. La historia natural de los cánceres tanto en seres humanos como en animales sugiere que se trata de un proceso que consta de varios pasos de evolución celular en el que quizá participa la inestabilidad genética celular y la selección repetitiva de células raras con cierta ventaja de crecimiento selectivo. Se calcula que este proceso provoca entre cinco y ocho mutaciones. Las observaciones sugieren que en la evolución de los tumores participa la activación

CUADRO 43-1 Relación de los virus con cánceres en el ser humano[a]

Familia de virus	Virus	Cáncer en el ser humano
Papilomaviridae	Papilomavirus humano	Tumores genitales
		Carcinoma de células escamosas
		Carcinoma bucofaríngeo
Herpesviridae	Virus de Epstein-Barr	Carcinoma nasofaríngeo
		Linfoma de Burkitt
		Enfermedad de Hodgkin
		Linfoma de células B
	Herpesvirus humano 8	Sarcoma de Kaposi
Hepadnaviridae	Virus de hepatitis B	Carcinoma hepatocelular
Retroviridae	Virus de linfoma de células T humano	Leucemia de células T del adulto
	Virus de inmunodeficiencia humana	Cánceres ligados al SIDA
Flaviviridae	Virus de hepatitis C	Carcinoma hepatocelular

[a]Los virus oncógenos humanos candidatos comprenden otros tipos de papilomavirus y poliomavirus SV40, JC y BK.

de múltiples oncogenes celulares y la desactivación de una serie de genes supresores tumorales, participe o no un virus.

Al parecer el virus oncógeno actúa por lo general como cofactor, proporcionando únicamente algunos de los pasos necesarios para generar células malignas. Los virus son necesarios —pero no suficientes— para la formación de tumores de causa viral. Con frecuencia los virus actúan como iniciadores del proceso neoplásico y lo hacen a través de diversos mecanismos.

Interacciones de los virus oncógenos con sus hospedadores

A. Infecciones persistentes

Para comprender la manera como el cáncer se origina en su entorno, es necesario conocer la patogenia de una infección viral y la respuesta del hospedador. Los virus oncógenos conocidos establecen infecciones persistentes y prolongadas en el hombre. A causa de una serie de diferencias en la susceptibilidad genética y respuesta inmunitaria individual, la magnitud de la multiplicación viral y los tropismos hísticos pueden variar entre las personas. A pesar de que en determinado momento muy pocas células en el hospedador se infectan, la cronicidad de la infección presenta una oportunidad prolongada para que se produzca un evento raro que permita la supervivencia de una célula con mecanismos reguladores de la proliferación que son modificados por el virus.

CUADRO 43-2 Principios de la carcinogénesis viral

1. Los virus causan cáncer en animales y seres humanos
2. Los virus oncógenos a menudo establecen infecciones persistentes en sus hospedadores naturales
3. Los factores del hospedador constituyen elementos importantes para la oncogénesis viral
4. Los virus rara vez son completamente carcinógenos
5. Las infecciones virales son más frecuentes que los tumores causados por virus
6. Entre la infección viral inicial y la aparición del tumor, por lo general transcurre un periodo de latencia prolongado
7. Las cepas virales tienen diferente potencial oncógeno
8. Los virus son elementos carcinógenos ya sea de acción directa o indirecta
9. Los virus oncógenos modulan las vías reguladoras de la proliferación en las células
10. Los modelos animales pueden revelar los mecanismos de la carcinogénesis viral
11. Las células de los tumores casi siempre exhiben marcadores virales
12. Un virus puede causar varios tipos de tumores

Reproducido con autorización de Butel JS: Viral carcinogenesis: Revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease. Carcinogenesis 2000;21:405.

B. Respuestas inmunitarias del hospedador

Los virus que establecen infecciones persistentes deben evitar ser detectados y reconocidos por el sistema inmunitario que podría eliminar la infección. Se han identificado diversas estrategias de evasión viral, que comprenden expresión restringida de los genes virales, con lo que las células infectadas se hacen casi invisibles para el hospedador (EBV en las células B); infección en sitios relativamente inaccesibles a la respuesta inmunitaria (HPV en la epidermis); mutación de antígenos virales que permite evadir el reconocimiento de los anticuerpos y células T (virus de inmunodeficiencia humana [VIH]); modulación de las moléculas de clase I del complejo mayor de histocompatibilidad del hospedador en las células infectadas (adenovirus, citomegalovirus); inhibición del procesamiento de antígenos (EBV), e infección y supresión de las células inmunitarias indispensables (VIH).

Se cree que los mecanismos inmunitarios de vigilancia del hospedador eliminan por lo general a las pocas células neoplásicas que se originan en las personas sanas que sufren una infección por un virus oncógeno. Sin embargo, cuando el hospedador padece inmunodepresión, es más probable que las células neoplásicas proliferen y escapen al control inmunitario. Los receptores de trasplantes de órganos, inmunodeprimidos de trasplantes de órganos y los individuos con el VIH tienen mayor riesgo de padecer linfomas por EBV y otras enfermedades vinculadas con papilomavirus humano. Probablemente las variaciones individuales en las respuestas inmunitarias contribuyen a la predisposición para padecer tumores por virus en los hospedadores sanos.

C. Mecanismos de acción de los virus oncógenos para el humano

Los virus oncógenos intermedian una serie de cambios de la conducta celular a través de una cantidad limitada de información genética. Esto se logra por medio de dos patrones generales: el virus oncógeno introduce un "gen transformante" nuevo en la célula (acción directa) o bien el virus modifica la expresión de uno o varios genes celulares preexistentes (acción indirecta). En cualquiera de los dos casos, la célula pierde el control de la regulación o la proliferación normal. A menudo se modifican las vías de reparación del DNA, lo que provoca inestabilidad genética y un fenotipo mutágeno.

Los virus no suelen comportarse como carcinógenos completos. Además de los cambios mediados por las funciones virales, se necesitan otras alteraciones para desactivar las vías reguladoras múltiples y puntos de vigilancia en las células normales para permitir que una célula se transforme por completo. No existe un solo método de transformación como base de la carcinogénesis viral. A nivel molecular, los mecanismos oncógenos de estos virus son diversos.

La transformación celular se puede definir como un cambio estable y hereditario en el control de la regulación de la proliferación de las células en cultivo. No existe un grupo de características que distinga de manera invariable a las células transformadas de sus contrapartes normales. En la práctica, la transformación se reconoce cuando la célula adquiere alguna propiedad de proliferación que no exhiben las células de donde se originan. La transformación en un fenotipo maligno se reconoce por la formación de un tumor cuando las células transformadas se inyectan en ciertos animales de laboratorio.

Los virus oncógenos que actúan de manera indirecta no pueden transformar células en cultivo.

D. Susceptibilidad celular a las infecciones y transformación viral

A nivel celular, las células del hospedador son permisivas o no permisivas para la replicación de determinado virus. Las células permisivas ayudan a la proliferación viral y la producción de una progenie viral. Las células no permisivas no lo hacen. Especialmente con los virus de DNA, las células permisivas a menudo son aniquiladas por la replicación viral y no se transforman a menos que se bloquee de alguna manera el ciclo de replicación viral que provoca la muerte de la célula hospedadora; las células no permisivas se pueden transformar. Sin embargo, existen casos en los que la replicación del virus del DNA no lisa a las células del hospedador y estas células se pueden transformar; no obstante, la transformación es bastante rara. Una propiedad característica de los virus de RNA oncógenos es que no son letales para las células en las que se multiplican. Las células que son permisivas para un virus pueden ser no permisivas para otro.

No todas las células del hospedador natural son susceptibles a la replicación, transformación viral o ambas. La mayor parte de los virus oncógenos exhibe gran histoespecificidad, propiedad que quizá refleja la presencia variable de receptores de superficie para el virus, el potencial de éste de generar infecciones diseminadas contra infecciones locales o los factores intracelulares necesarios para la expresión de los genes virales.

Algunos virus producen un solo tipo de tumor, mientras que otros se han vinculado con múltiples tipos. Estas diferencias reflejan los tropismos hísticos de los virus.

E. Retención del ácido nucleico del virus oncógeno en una célula hospedadora

La transformación genética estable de una célula normal en una neoplásica por lo general requiere de la retención de genes virales en la célula. Con frecuencia, pero no siempre, esto se logra por medio de la integración de determinados genes virales en el genoma de la célula hospedadora. Con los virus de DNA oncógenos, una parte del DNA del genoma viral se integra en el cromosoma de la célula hospedadora. Algunas veces las células tumorales conservan copias episómicas del genoma viral. Con los retrovirus, la copia de DNA proviral del RNA viral se integra en el DNA de la célula hospedadora. Para el caso del virus de hepatitis C copias del genoma de RNA que no se integra se mantienen en las células tumorales.

En determinados sistemas virales, las células transformadas por virus pueden liberar factores de crecimiento que modifican el fenotipo de las células vecinas no infectadas, contribuyendo de esta manera a la formación de tumores. También es posible que conforme las células tumorales desarrollen el tumor acumulen mutaciones genéticas durante el crecimiento del tumor, lo cual desaparece la necesidad de tener genes virales que incitaron la formación del tumor y algunas células pierden los marcadores virales.

RETROVIRUS

Los retrovirus contienen un genoma de RNA y una DNA polimerasa dirigida por RNA (transcriptasa inversa). Los virus de RNA oncógenos en esta familia generan principalmente tumores de los sistemas reticuloendotelial y hematopoyético (leucemias, linfomas) o del tejido conjuntivo (sarcomas).

En el cuadro 43-3 se enumeran las propiedades más importantes de los retrovirus.

Estructura y composición

El genoma del retrovirus consta de dos subunidades idénticas de RNA efector monocatenario, de polaridad positiva, cada

CUADRO 43-3 Propiedades importantes de los retrovirus

Virión: Esférico, 80 a 110 nm de diámetro, nucleoproteína helicoidal dentro de una cápside icosaédrica
Composición: RNA (2%), proteína (alrededor de 60%), lípidos (cerca 35%), carbohidratos (cerca de 3%)
Genoma: RNA monocatenario, lineal, efector, 7 a 11 kb, diploide, en ocasiones defectuoso; en ocasiones transporta un oncogén
Proteínas: Enzima transcriptasa inversa contenida en el virión
Cubierta: Presente
Replicación: La transcriptasa inversa hace una copia del DNA a partir del RNA genómico; el DNA (provirus) se integra en el cromosoma celular; el provirus es la plantilla para el RNA viral
Maduración: Los viriones brotan de la membrana plasmática
Características principales: Las infecciones no aniquilan células En ocasiones traduce oncogenes celulares, otras veces activa la expresión de genes celulares Los provirus permanecen ligados de manera permanente a las células y a menudo no se expresan Muchos miembros son virus oncógenos

una de 7 a 11 kilobases. La transcriptasa inversa contenida en las partículas virales es indispensable para la replicación viral.

Las partículas de retrovirus contienen ribonucleoproteína helicoidal dentro de una cápside icosaédrica rodeada por una membrana externa (envoltura) que contiene glucoproteínas y lípidos. Las glucoproteínas de la envoltura viral son antígenos específicos para cada tipo o subgrupo y son codificadas por el gen *env*. Los antígenos específicos para cada grupo se ubican en el centro del virión y son codificados por el gen *gag*.

Se conocen tres clases morfológicas de retrovirus extracelulares —así como una variedad intracelular— con base en la microscopia electrónica. Estos estudios reflejan procesos ligeramente distintos de morfogénesis en diferentes retrovirus. En la figura 43-1 se muestran algunos ejemplos.

Las partículas tipo A sólo existen dentro de la célula y al parecer no son infecciosas. Las partículas intracitoplásmicas tipo A, que miden 75 nm de diámetro, son precursoras de los virus extracelulares tipo B, mientras que las partículas intracisternales tipo A, de 60 a 90 nm de diámetro, son entidades desconocidas. Los virus tipo B miden de 100 a 130 nm de diámetro y contienen un nucleoide excéntrico. El prototipo de este grupo es el virus que causa el cáncer de mama en el ratón, que aparece en las cepas "con gran cantidad de cáncer mamario" de ratones endogámicos y abunda especialmente en el tejido mamario lac-

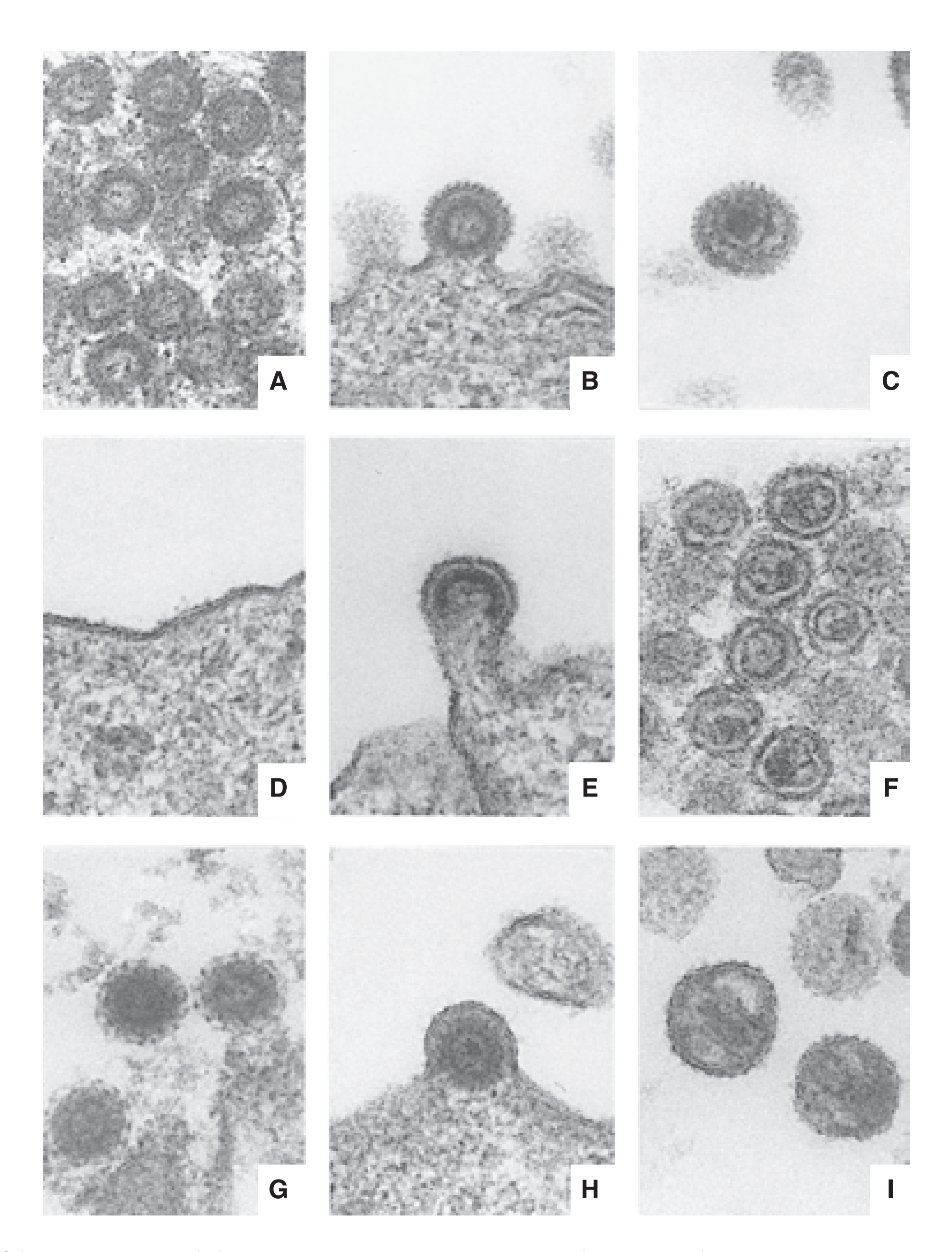


FIGURA 43-1 Morfología comparativa de los retrovirus tipos A, B, C y D. **A:** Partículas intracitoplásmicas tipo A (que representan al precursor inmaduro del virus tipo B gemado). **B:** Gemación del virus tipo B naciente. **C:** Virus tipo B extracelular maduro. **D:** Ausencia de una estructura intracitoplásmica reconocible desde el punto de vista morfológico de un virus tipo C. **E:** Gemación del virus tipo C. **F:** Virus tipo C extracelular maduro. **G:** Partícula intracitoplásmica tipo A (que representa al precursor inmaduro de un virus tipo D). **H:** Gemación del virus tipo D. **I:** Virus tipo D extracelular maduro. Las microfotografías son de aproximadamente 87 000×. Los cortes delgados se tiñeron doblemente con uranilacetato y citrato de plomo. (Cortesía de D Fine y M Gonda.)

tante y la leche. Se transfiere fácilmente a los ratones lactantes, en los cuales la frecuencia de adenocarcinoma mamario ulterior es elevada. Los virus tipo C constituyen el grupo más grande de retrovirus. Las partículas miden entre 90 y 110 nm de diámetro y sus nucleoides electrodensos tienen una ubicación central. Los virus tipo C son entidades endógenas o exógenas (véase más adelante). Los lentivirus también son virus tipo C. Por último, los retrovirus tipo D están poco caracterizados. Las partículas miden entre 100 y 120 nm de diámetro, contienen un nucleoide excéntrico y exhiben espículas en la superficie que son más cortas que las de las partículas tipo B.

Clasificación

A. Género

La familia Retroviridae se divide en siete géneros: *Alfarretrovirus* (que comprende a los virus de la leucosis aviar y de sarcoma), *Betarretrovirus* (virus causales de tumor mamario en ratones), *Gammarretrovirus* (virus de leucemia y sarcoma en mamíferos), *Deltarretrovirus* (virus linfotrópico T humano y virus de leucemia bovina), *Epsilonretrovirus* (virus de peces), *Spumavirus* (que comprende a los virus que causan degeneración "espumosa" de las células inoculadas pero que no se han relacionado con alguna enfermedad conocida) y *Lentivirus* (que comprende agentes que causan infecciones crónicas con deficiencias neurológicas lentamente progresivas, incluido el VIH; cap. 44).

Los retrovirus se organizan de diversas formas según sus propiedades morfológicas, biológicas y genéticas. A menudo se utilizan sus diferencias en cuanto a las secuencias del genoma y la gama de hospedadores naturales, pero no las propiedades antigénicas. Los retrovirus se pueden agrupar desde el punto de vista morfológico (tipos B, C y D); la mayor parte de las cepas aisladas exhibe características del tipo C.

B. Hospedador de origen

Se han aislado retrovirus a partir de casi todas las especies de vertebrados. Por lo general las infecciones naturales producidas por determinado virus se limitan a una sola especie, aunque también existen algunas infecciones entre especies. Los virus de la misma especie hospedadora comparten determinantes antigénicos específicos para cada grupo en la proteína interna principal (central). Los virus de mamífero son más afines entre sí que los de las especies aviares.

Los virus de RNA oncógenos más estudiados en forma experimental son los virus del sarcoma de pollos y ratones y los virus de leucemia de ratones, gatos, pollos y seres humanos.

C. Exógenos o endógenos

Los retrovirus exógenos se propagan en forma horizontal y se comportan como microorganismos infecciosos típicos. Inician la infección y la transformación únicamente después del contacto. A diferencia de los virus endógenos, que se encuentran en todas las células de los individuos que forman determinada especie, las secuencias genéticas de los virus exógenos se encuentran exclusivamente en las células infectadas. Al parecer todos los retrovirus patógenos son exógenos.

Los retrovirus también se pueden propagar en sentido vertical a través de la línea germinativa. La información genética viral que forma parte constante de la constitución genética de un organismo se denomina "endógena". Un provirus retroviral integrado se comporta como conjunto de genes celulares y está sujeto al control de la regulación celular, que casi siempre tiene como resultado la represión parcial o completa de la expresión del gen viral. Su ubicación en el genoma celular y la presencia de factores correspondientes de transcripción celular determinan en gran parte si (y cuándo) se activa la expresión viral. Con cierta frecuencia las células normales mantienen una infección viral endógena latente durante periodos prolongados.

Muchos vertebrados, incluido el ser humano, poseen múltiples copias de secuencias endógenas de virus de RNA. Estas secuencias endógenas al parecer no ofrecen beneficios al animal. Sin embargo, los provirus endógenos de los virus que causan tumores mamarios que son transportados en cepas de ratones expresan actividades de superantígeno que repercuten en los repertorios de células T de los animales.

Los virus endógenos suelen no ser patógenos para sus animales hospedadores. No causan ninguna enfermedad y no pueden transformar las células en cultivo. (Existen ejemplos de enfermedad causada por replicación de virus endógenos en cepas de ratones.)

Las características más importantes de los virus endógenos son las siguientes: 1) las copias de DNA de los genomas de los virus de RNA oncógenos se unen de manera covalente al DNA celular y existen en todas las células somáticas y germinativas del hospedador; 2) los genomas de los virus endógenos se transmiten de padres a hijos; 3) el estado integrado obliga a que los genomas de los virus endógenos estén bajo control genético, y 4) es posible inducir virus endógenos para que se multipliquen ya sea en forma espontánea o por medio del tratamiento con factores extrínsecos (químicos).

D. Gama de hospedadores

Uno de los principales factores que define la gama de hospedadores de un retrovirus es la presencia o ausencia de un receptor apropiado en la superficie celular. La infección empieza por una interacción entre la glucoproteína de la envoltura viral y el receptor de la superficie celular. Los virus **ecotrópicos** infectan y se multiplican únicamente en células de animales de la especie hospedadora original. Los virus **anfotrópicos** tienen una gran variedad de hospedadores (pueden infectar células no sólo de los hospedadores naturales, sino también de especies heterólogas) puesto que reconocen a un receptor de distribución amplia. Los virus **xenotrópicos** se multiplican en algunas células heterólogas (extrañas) pero no en las células del hospedador natural. Muchos virus endógenos tienen una gama xenotrópica de hospedadores.

E. Contenido genético

Los retrovirus tienen un contenido genético simple, pero existen algunas variaciones en cuanto al número y tipo de genes contenidos. La composición genética de un virus repercute en sus propiedades biológicas. La estructura genómica es un método útil para clasificar a los virus de RNA oncógenos (fig. 43-2).

Los virus tradicionales de la leucemia (*Alfarretrovirus* y *Gammarretrovirus*) contienen genes necesarios para la replicación

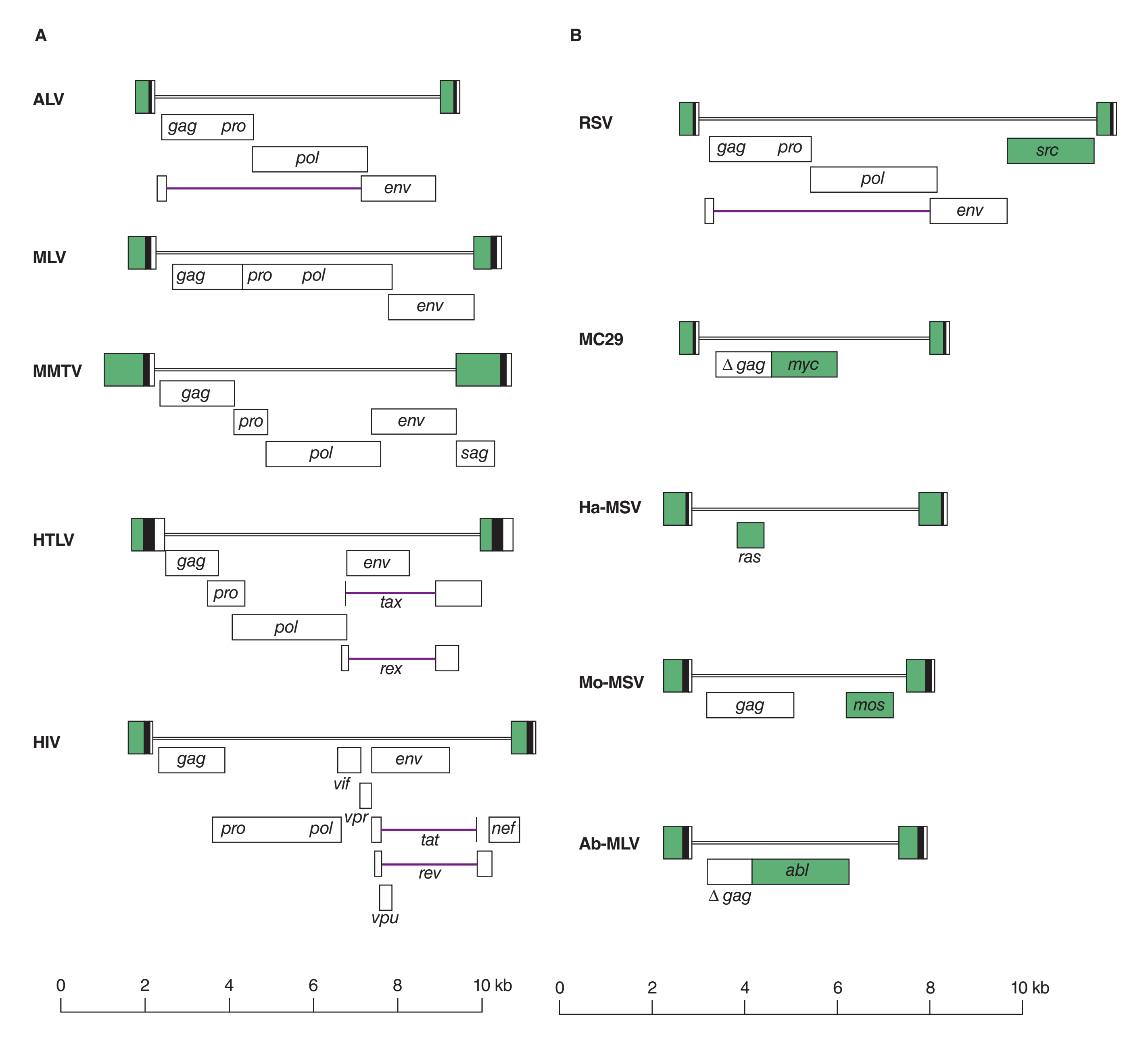


FIGURA 43-2 Organización genética de los retrovirus representativos. **A:** Virus no defectuoso que se puede replicar. Se muestran ejemplos de retrovirus con genomas simples y complejos. Un rectángulo vacío muestra en marco de lectura abierto para el gen indicado. Si los rectángulos están en forma vertical, sus marcos de lectura difieren. Las líneas horizontales que conectan a dos rectángulos indican que este segmento se empalma. **Genomas simples:** ALV, virus de leucosis aviar (*Alfarretrovirus*); MLV, virus de leucemia murina (*Gammarretrovirus*); MMTV, virus de tumor mamario en ratones (*Betarretrovirus*). **Genomas complejos:** HTLV, virus linfotrópico T humano (*Deltarretrovirus*); VIH, virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (*Lentivirus*). **B:** Virus portadores de oncogenes. Se muestran varios ejemplos y los oncogenes se han sombreado; todos son defectuosos excepto RSV. RSV, virus del sarcoma de Rous (oncogén *src*) (*Alfarretrovirus*); MC29, virus de mielocitomatosis aviar (oncogén *myc*) (*Alfarretrovirus*); Ha-MSV, virus de sarcoma murino de Harvey (oncogén *ras*) (*Gammarretovirus*); Mo-MSV, virus de sarcoma murino de Moloney (oncogén *mos*) (*Gammarretrovirus*); Ab-MLV, virus de leucemia murina de Abelson (oncogén *abl*) (*Gamarretrovirus*). En la parte inferior de cada recuadro se muestra la escala para comparar el tamaño de los genomas. (Modificada con autorización de Vogt VM: Retroviral virions and genomes. En: *Retroviruses*. Coffin JM, Hughes SH, Varmus HE [editors]. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1977.)

viral: *gag*, que codifica las proteínas centrales (antígenos específicos para grupos); *pro*, que codifica una enzima proteasa; *pol*, que codifica la enzima transcriptasa inversa (polimerasa), y *env*, que codifica las glucoproteínas que forman proyecciones en la envoltura de la partícula. El orden de los genes en todos los retrovirus es 5′-*gag*-*pro*-*pol*-*env*-3′.

Algunos virus, ejemplificados por los retrovirus humanos (*Deltarretrovirus* y *Lentivirus*) contienen otros genes río abajo después del gen *env*. Uno es un gen regulador transactivador (*tax* o *tat*) que codifica una proteína no estructural que altera la eficacia de la transcripción o traducción de otros genes virales. Los lentivirus, incluido el VIH, poseen un genoma más complejo y contienen varios genes accesorios adicionales (cap. 44).

Los retrovirus con cualquiera de estas estructuras genómicas serán aptos para la replicación (en las células correspondientes).

Puesto que carecen de un gen transformante (*onc*), no pueden transformar a las células en un cultivo de tejido. Sin embargo, pueden transformar células precursoras en tejidos hematopoyéticos *in vivo*.

Los retrovirus que transforman directamente, poseen un gen *onc.* Los genes transformantes que poseen diversos virus de RNA oncógenos representan genes celulares que han sido apropiados por esos virus en algún momento lejano e incorporados en sus genomas (fig. 43-2).

Estos virus son altamente oncógenos en los animales hospedadores apropiados y pueden transformar células en cultivo. Con muy pocas excepciones, la adición del DNA celular provoca pérdida de porciones del genoma viral. Por lo tanto, los virus que causan sarcoma casi siempre tienen defectos de la replicación; únicamente producen progenie en presencia de virus auxiliares. Éstos casi siempre son otros retrovirus (virus de leucemia) que se recombinan de diversas formas con los virus defectuosos. Estos retrovirus transformantes defectuosos son el origen de muchos de los oncogenes celulares conocidos.

F. Potencial oncógeno

Los retrovirus que contienen oncogenes son altamente oncógenos. Algunas veces se les llama microorganismos "transformantes agudos" puesto que inducen la formación de tumores *in vivo* después de periodos de latencia cortos e inducen rápidamente transformación de las células *in vitro.* Los virus que no poseen un oncogén tienen un potencial oncógeno mucho menor. La enfermedad (casi siempre de las células sanguíneas) aparece después de un periodo de latencia prolongado (es decir, "transformación lenta"); las células en cultivo no se transforman.

En breve, la transformación neoplásica que generan los retrovirus es resultado de un gen celular que normalmente se expresa a un nivel reducido y bien regulado que se activa y expresa de fondo. En el caso de los virus transformantes agudos, un gen celular se ha introducido por recombinación en el genoma viral y se expresa como gen bajo el control del promotor viral. En el caso de los virus transformantes lentos que causan leucemia, el promotor o elemento potenciador del virus se introduce adyacente o cerca del gen celular en el cromosoma de la célula.

Replicación de los retrovirus

En la figura 43-3 aparece el esquema de un ciclo típico de replicación retroviral representada por el virus linfotrópico T humano (HTLV). El gen *pol* codifica a la proteína polimerasa (transcriptasa inversa) con cuatro actividades enzimáticas (proteasa, polimerasa, RNasa H, e integrasa). Una vez que las partículas virales se han adsorbido y penetrado en las células hospedadoras, el RNA viral sirve como molde para la síntesis de DNA viral a través de la acción de la enzima viral transcriptasa inversa, que funciona como DNA polimerasa dependiente del RNA. Por medio de un proceso complejo, las secuencias de ambos extremos del RNA viral se duplican, formando la repetición terminal larga ubicada en cada extremo del DNA viral (fig. 43-4). Estas repeticiones terminales largas existen únicamente en el DNA viral. Este DNA en cuestión recién formado se integra en el DNA de la célula hospedadora como provirus. La estructura del provirus es constante, pero su integración en los genomas de la célula hospedadora ocurre en distintos sitios. La orientación precisa del provirus después de la integración se logra por medio de secuencias específicas en los extremos de ambas repeticiones terminales largas.

De esta manera, los genomas de la progenie viral se pueden transcribir del provirus de DNA en el RNA viral. La secuencia U3 en la repetición terminal larga contiene tanto un promotor como un potenciador. El potenciador ayuda a conferir especificidad hística a la expresión viral. La transcripción del DNA proviral está a cargo de la enzima del hospedador RNA polimerasa II. Los transcritos de longitud completa (sellados, poliadenilados) sirven como RNA genómico para la encapsidación de la progenie en viriones. Algunos transcritos son procesados y los mRNA subgenómicos son traducidos para producir proteínas precursoras virales que son modificadas y desdobladas para formar los productos proteínicos finales.

Cuando el virus contiene un gen transformante, el oncogén no participa en la replicación. Esto es a diferencia de los virus de DNA oncógenos, en los cuales los genes transformantes también son genes esenciales para la replicación viral.

Las partículas de virus se ensamblan y emergen de la célula hospedadora infectada por gemación de las membranas plasmáticas. A continuación la proteasa viral desdobla a las proteínas Gag y Pol de la poliproteína precursora, generando un virión infeccioso maduro preparado para la transcripción inversa cuando se infecta la siguiente célula.

Una característica sobresaliente de los retrovirus es que no son citolíticos, es decir, no destruyen a las células en que se multiplican. La excepción son los lentivirus, que en ocasiones son citolíticos (cap. 44). El provirus permanece integrado dentro del DNA celular durante la vida de la célula. No se conoce método para curar a una célula de una infección crónica por retrovirus.

Retrovirus humanos

A. Virus linfotrópicos humanos de células T

Muy pocos retrovirus producen tumores en el ser humano. El grupo de retrovirus HTLV quizá ha existido en nuestra especie desde hace miles de años. Se sabe que el HTLV-1 es el agente causal de la leucemia-linfoma de células T del adulto (ATL, *adult T cell leukemia-lymphomas*) además de una enfermedad degenerativa del sistema nervioso llamada paraparesia espástica tropical. No posee un oncogén. Se ha aislado otro virus humano afín, HTLV-2, pero no ha sido posible relacionarlo de manera concluyente con una enfermedad. Ambas variantes, HTLV-1 y HTLV-2, comparten cerca de 65% de la homología de secuencia y exhiben una reactividad cruzada serológica considerable.

Los virus linfotrópicos humanos tienen gran afinidad por las células T maduras. HTLV-1 se expresa muy poco en las personas infectadas. Al parecer, las secuencias de promotor-potenciador viral en la repetición terminal larga responden a ciertas señales vinculadas con la activación y proliferación de las células T. De ser así, la replicación de los virus quizá está ligada a la replicación de las células hospedadoras, estrategia que aseguraría la propagación eficaz del virus.

Los retrovirus humanos son transreguladores (fig. 43-2). Poseen un gen *tax*, cuyo producto modifica la expresión de otros genes virales. Se cree que los genes reguladores transactivadores son necesarios para la replicación viral *in vivo* y que muchos de ellos contribuyen a la oncogénesis al modular además a los genes celulares que regulan la proliferación celular.

Existen varios subtipos genéticos de HTLV-1 pero los principales son A, B y C (éstos no representan serotipos diferentes).

El virus es de distribución mundial y se calcula que existen entre 10 y 20 millones de individuos infectados. En determinadas regiones geográficas (sur de Japón, Melanesia, Caribe, Centroamérica y Sudamérica y algunas regiones de África) se observan cúmulos de enfermedades causadas por HTLV (fig. 43-5). Si bien menos de 1% de la población mundial tiene anticuerpos contra HTLV-1, más de 10% de la población en las áreas endémicas es seropositiva y se detectan anticuerpos en 50% de los familiares de los pacientes con leucemia y virus positivo.

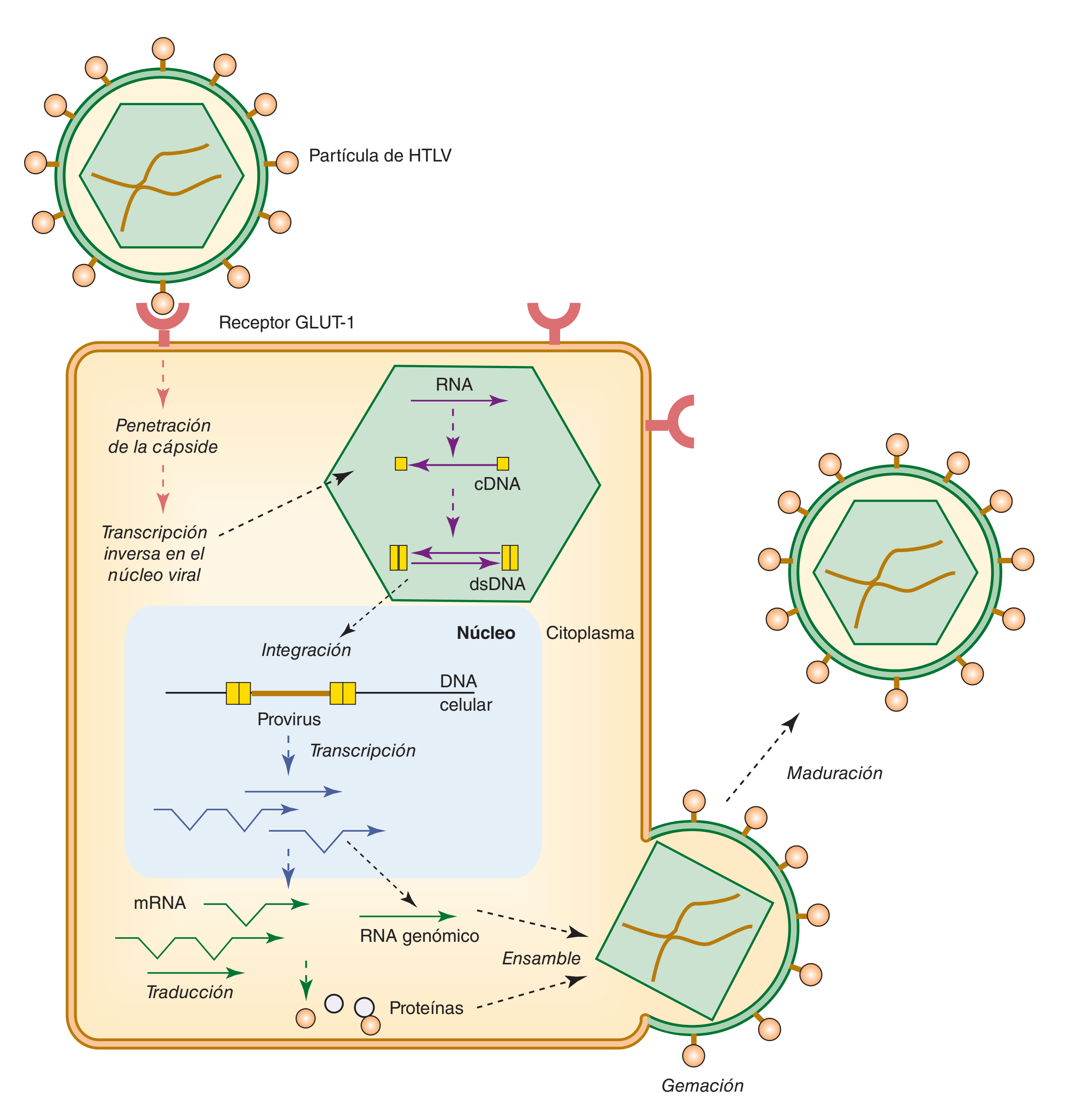


FIGURA 43-3 Resumen del ciclo de replicación del virus linfotrópico T humano (HTLV). La partícula viral se adhiere a un receptor de la superficie celular y la cápside viral penetra en la célula. La enzima viral transcriptasa inversa produce una copia de DNA a partir del genoma de RNA dentro de la cápside en el citoplasma. El DNA penetra al núcleo y se integra de manera aleatoria con el DNA celular, formando el provirus. Los provirus integrados sirven como plantilla para la síntesis de transcripciones virales, algunas de las cuales no se empalman y se encapsidan como RNA genómico y otros, algunos de los cuales son empalmados, sirven como mRNA. Se sintetizan las proteínas virales; los genomas de RNA y proteínas se ensamblan y brotan partículas a partir de la célula por gemación. Las proteínas de la cápside se transforman por medio de proteólisis a través de la proteasa viral produciendo viriones maduros e infecciosos, que se muestran en el esquema como conversión de un cuadrado en un núcleo icosaédrico. (Cortesía de SJ Marriott.)

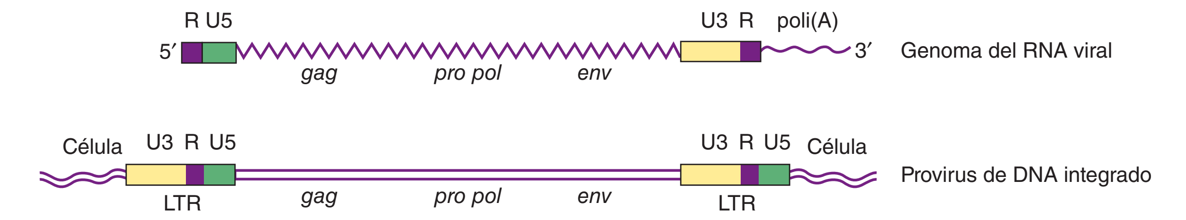


FIGURA 43-4 Comparación de las estructuras de genomas de RNA retrovirales y el DNA proviral integrado. Una partícula viral contiene dos copias idénticas del genoma de RNA monocatenario. El extremo 5′ está marcado, y el extremo 3′ está poliadenilado. Una secuencia corta, R, está repetida en ambos extremos; existen secuencias únicas localizadas cerca del extremo 5′ (U5) y en el extremo 3′ (U3). El U3 contiene secuencias del promotor y del potenciador. El provirus de DNA integrado está flanqueado en cada uno de los extremos por las estructuras denominadas repeticiones terminales largas (LTR) generadas durante la síntesis de la copia del DNA por transcripción inversa. Cada repetición terminal larga contiene secuencias U3, R y U5. Las repeticiones terminales largas y las regiones codificantes del genoma retroviral no están esquematizadas a escala.

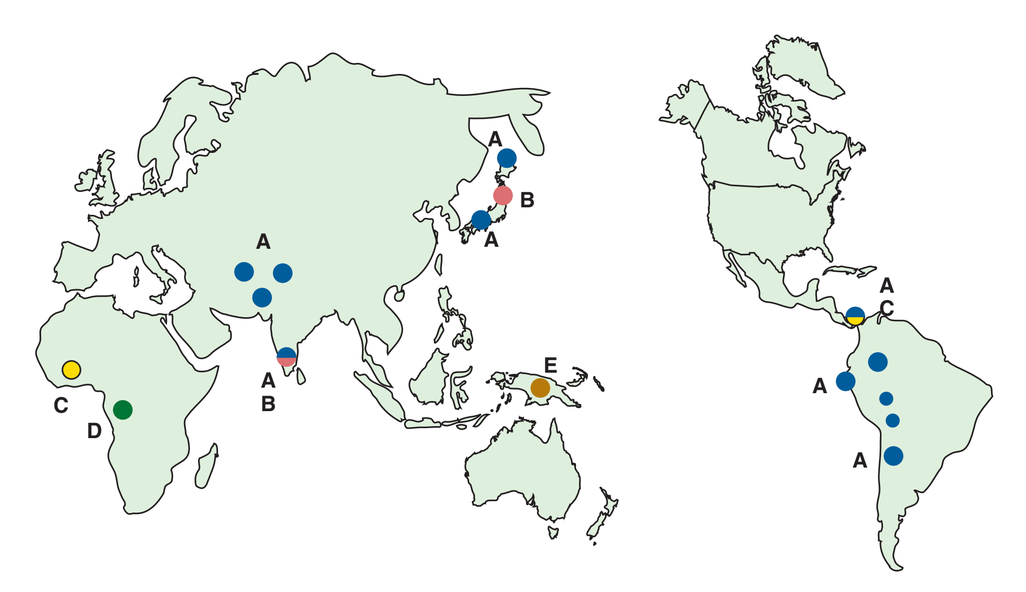


FIGURA 43-5 Los subtipos de HTLV-1 tienen una distribución geográfica en forma de focos endémicos. **A:** Japón, India, región del Caribe y los Andes. **B:** Japón e India. **C:** África Occidental y región del Caribe. **D:** África Central. **E:** Papúa Nueva Guinea. (Cortesía de N Mueller.)

La ATL responde poco al tratamiento. La supervivencia a cinco años de los pacientes con este cáncer es menor a 5%.

Aparentemente la transmisión de HTLV-1 se lleva a cabo a través de virus asociado a las células. Una ruta importante es la transmisión de madre a hijo a través de la leche materna. Se calcula que la eficacia de la transmisión de una madre infectada a su hijo es de 15 a 25%. Estas infecciones en etapas tan tempranas de la vida son las que tienen mayor riesgo de producir leucemia-linfoma de células T del adulto. Las transfusiones sanguíneas son otro método efectivo de transmisión, así como el hecho de compartir agujas contaminadas con sangre (drogadictos) y a través del coito.

La seroepidemiología ha vinculado la infección con HTLV-1 a un síndrome llamado mielopatía/paraparesia espástica tropical ligada a HTLV-1 (HAM/TSP). La característica clínica principal de esta enfermedad es la debilidad progresiva de las extremidades inferiores y la parte inferior del cuerpo. Las facultades mentales del paciente permanecen intactas. Se dice que la HAM/TSP es de la misma magnitud e importancia en el trópico que la esclerosis múltiple en los países occidentales.

B. Virus de inmunodeficiencia humana

Se sabe que un grupo de retrovirus humanos constituye la causa del SIDA (cap. 44). Los VIH son virus citolíticos y no transformantes y se clasifican como lentivirus. Sin embargo, los pacientes con SIDA tienen mayor riesgo de padecer diversos tipos de cáncer por la inmunosupresión que genera la infección por el virus de inmunodeficiencia humana. Estos cánceres comprenden linfomas y cáncer cervicouterino.

C. Otros

Existe un gammarretrovirus humano nuevo, XMRV, que fue descubierto en el año 2006 utilizando tecnología de análisis en micromatriz (microarreglos) con secuencias genéticas de más de 1 000 virus. Es afín, pero diferente, a los virus de la leucemia murina genotrópica y carece de un oncogén. Se identificó en tumores de pacientes con cáncer prostático familiar, pero no se ha establecido su participación en la carcinogénesis prostática.

Los virus espumosos del simio del género *Spumavirus* son muy frecuentes en los primates no humanos en cautiverio. En ocasiones, el hombre se infecta con virus espumosos cuando tiene contacto con primates, pero estas infecciones no han generado ninguna enfermedad reconocida.

ONCOGENES CELULARES

El término "oncogén" es el que se utiliza para referirse a los genes que participan en el origen del cáncer. Las células sanas poseen versiones normales de estos genes transformantes que se han llamado protooncogenes.

El descubrimiento de los oncogenes celulares proviene de estudios con retrovirus transformantes rápidos. Se observó que las células sanas contenían copias muy similares (pero no idénticas) de diversos genes transformantes de retrovirus; las secuencias celulares habían sido capturadas e incorporadas en genomas retrovirales. Probablemente la transducción de los genes celulares fue probablemente un accidente, puesto que la presencia de secuencias celulares no beneficia al virus. Se han detectado muchos otros oncogenes celulares que no se han segregado en vectores retrovirales por medio de métodos moleculares.

En los oncogenes celulares se localizan parcialmente responsables de la base molecular del cáncer humano. Representan componentes individuales de rutas complicadas para la regulación de la proliferación, división y diferenciación celular, así como mantenimiento de la integridad del genoma. La expresión incorrecta de cualquiera de estos componentes puede interrumpir la regulación y el resultado es la proliferación descontrolada de células (cáncer). Existen ejemplos de cinasas específicas de tirosina (p. ej., *src*), factores de crecimiento (p. ej., *sis* es similar al factor humano de crecimiento derivado de las plaquetas, mitógeno potente para las células originadas en el tejido conjuntivo), receptores de factores del crecimiento mutados (*erb*-B es un receptor truncado del factor de crecimiento epidérmico), proteínas enlazadoras de GTP (Ha-*ras*) y factores nucleares de transcripción (*myc*, *jun*).

Los mecanismos moleculares encargados de activar a un protooncogén benigno y convertirlo en un gen de cáncer varían, pero todos ellos comprenden un daño genético. En ocasiones el gen se sobreexpresa y quizá el efecto que tiene la cantidad del oncogén sobreproducido es importante para los cambios en la proliferación celular. Estos mecanismos tienen como resultado una actividad constitutiva (pérdida de la regulación normal) de manera que el gen se expresa en el momento incorrecto durante el ciclo celular o en un tipo de tejido incorrecto. Las mutaciones alteran la interacción escrupulosamente regulada de un protooncogén proteínico con otras proteínas o ácidos nucleicos. La inserción de un promotor retroviral adyacente a un oncogén celular puede resultar en el aumento de la expresión de ese gen (es decir, "oncogénesis por inserción de un promotor"). La expresión de un gen celular quizá también aumenta por la acción de secuencias virales "potenciadoras" cercanas.

GENES SUPRESORES DE TUMORES

Otra clase de genes oncógenos en el ser humano es la que participa en la formación de tumores. Éstos son reguladores negativos de la proliferación celular o genes supresores de tumores. Se identificaron gracias a que forman complejos con las oncoproteínas de ciertos virus de DNA oncógenos. Es necesaria la **desactivación** o pérdida funcional de ambos alelos de este gen para que se forme un tumor (a diferencia de la **activación** que ocurre con los oncogenes celulares). El prototipo de esta clase inhibidora de genes inhibidores es el gen del retinoblastoma (*Rb*). La proteína Rb inhibe el ingreso de las células en la fase S al unirse a determinados factores fundamentales de transcripción que regulan la expresión de los genes de la fase S. La función de la proteína Rb normal es regulada por fosforilación. La pérdida de la función del gen Rb tiene relación causal con la formación del retinoblastoma (tumor ocular raro de los niños) y otros tumores del ser humano.

Otro gen supresor de tumores que es muy importante es el gen *p53*; además bloquea el avance del ciclo celular; p53 actúa como factor de transcripción y regula la síntesis de una proteína que inhibe la función de determinadas cinasas del ciclo celular. Además provoca la apoptosis de las células con daño del ácido desoxirribonucleico. Cuando se pierde la función del p53, las células con DNA dañado avanzan a lo largo del ciclo celular, provocando finalmente acumulación de mutaciones genéticas. El gen *p53* se encuentra mutado en más de 50% de los cánceres del ser humano.

VIRUS DE DNA ONCÓGENOS

Existen diferencias fundamentales entre los oncogenes de los virus de DNA y virus de RNA oncógenos. Los genes transformantes que poseen los virus de DNA oncógenos codifican funciones necesarias para la replicación viral y no tienen homólogos normales en las células. Por el contrario, los retrovirus pueden tener oncogenes celulares traducidos que no participan en la regulación viral o que actúan a través de mecanismos indirectos. Las proteínas transformadoras de los virus de DNA forman complejos con las proteínas normales de la célula modificando su función. Para poder comprender el mecanismo de acción de las proteínas transformadoras de los virus de DNA es importante identificar los elementos de la célula con los que interactúan. En el cuadro 43-4 se muestran algunos ejemplos de estas interacciones.

POLIOMAVIRUS

En el cuadro 43-5 se describen las propiedades más importantes de los poliomavirus.

Clasificación

La familia Poliomaviridae comprende un solo género llamado *Poliomavirus*, que antiguamente formaba parte de la familia Papovaviridae (que ya no existe). Los poliomavirus son pequeños (diámetro de 45 nm) y poseen un genoma circular de DNA bicatenario (5 kbp; PM de 3×10^6) dentro de una cápside sin cubierta con simetría icosaédrica (fig. 43-6). Las histonas celulares se utilizan para condensar al DNA viral dentro de las partículas de virus.

Algunos virus de DNA oncógenos sencillos con muy poca información genética (6 o 7 genes) son el SV40 de monos y seres

CUADRO 43-4 Ejemplos de oncoproteínas de virus de DNA e interacciones de las proteínas celulares[a]

Virus	Oncoproteínas virales	Objetivos celulares
Poliomavirus SV40	Antígeno T grande	p53, pRb
	Antígeno t pequeño	PP2A
Papilomavirus humano	E6	p53, DLG, MAGI-1, MUPP1
	E7	pRb
Papilomavirus bovino	E5	Receptor PDGFβ
Adenovirus	E1A	pRb
	E1B-55K	p53
Adenovirus 9	E4ORF1	DLG, MAGI-1, MUPP1
Herpesvirus EBV	LMP1	TRAF

[a]p53, producto del gen *p53;* pRb, producto del gen de retinoblastoma; PP2A, proteína fosfatasa 2A; PDGF, factor de crecimiento derivado de plaquetas; EBV, virus de Epstein-Barr; TRAF, factor asociado al receptor de factor de necrosis tumoral. DLG, MAGI-1 y MUPP1 son miembros de una familia de proteínas celulares que contienen dominios PDZ.

humanos, BK, JC, KI, WU y virus de células de Merkel de seres humanos y virus de polioma murino de ratón. Se ha observado que muchas especies de mamíferos y algunas aves tienen su propia especie de poliomavirus.

Replicación de los poliomavirus

El genoma de los poliomavirus contiene una región "temprana" y otra "tardía" (fig. 43-7). La inicial se expresa poco después de la infección de las células; contiene genes que codifican las proteínas tempranas, es decir, el antígeno de tumor grande (T) SV40, que es necesario para la replicación del DNA viral en las células permisivas, y el antígeno de tumores pequeños (t). El genoma del virus del polioma murino codifica tres proteínas tempranas (antígenos T pequeño, intermedio y grande). Uno o dos de los antígenos T son los únicos productos del gen viral que son necesarios para la transformación de las células. Por lo general, las proteínas transformadoras se deben sintetizar continuamente para que las células permanezcan transformadas. La región tardía consta de genes que codifican la síntesis de las proteínas de revestimiento; no participan en la transformación ni se expresan en las células transformadas.

El antígeno T SV40 interactúa con los productos del gen supresor de tumores, que son miembros de la familia p53 y pRb (cuadro 43-4). Las interacciones del antígeno T con las proteínas celulares son importantes para el ciclo de replicación del virus. La formación de complejos desactiva desde el punto de vista funcional las propiedades inhibidoras de la proliferación de pRb y p53, lo que permite a la célula ingresar en la fase S para que el DNA del virus se multiplique. De la misma manera, es indispensable la desactivación funcional de proteínas celulares por la unión con el antígeno T para el proceso de transformación mediada por el virus. Conforme p53 percibe el daño del DNA y bloquea el avance del ciclo celular o bien estimula la apoptosis, la interrupción de su función provocaría acumulación de células que expresan antígeno T con mutaciones genómicas que fomentan la oncogénesis.

CUADRO 43-5 Propiedades importantes de los poliomavirus[a]

Virión: Icosaédrico, 45 nm de diámetro	
Composición: DNA (10%), proteínas (90%)	
Genoma: DNA bicatenario, circular, 5 kbp, PM 3 millones	
Proteínas: Tres proteínas estructurales; las histonas celulares condensan DNA en el virión	
Cubierta: Ninguna	
Replicación: Núcleo	
Características principales: Estimula la síntesis de DNA celular; Las oncoproteínas virales interactúan con las proteínas supresoras de tumores celulares; Prototipos importantes de virus oncógenos; Los virus de seres humanos pueden causar neuropatías y nefropatías en personas; En ocasiones provocan cáncer en el ser humano	

[a]Antiguamente clasificado dentro de la familia Papovaviridae.

Patogenia y anatomía patológica

Los poliomavirus humanos (BK y JC) tienen distribución mundial en las poblaciones de seres humanos, puesto en evidencia por la presencia de anticuerpos específicos en 70 a 80% de los sueros de adultos. Por lo general la infección se adquiere durante la infancia. Ambos virus persisten en los riñones y tejido linfoide de las personas sanas después de la infección primaria y se reactivan cuando se altera la respuesta inmunitaria del hospedador, por ejemplo, por un trasplante renal, durante el embarazo o con la edad avanzada. En los individuos inmunocompetentes, la reactivación viral y el desprendimiento de virus en la orina son asintomáticas. Los virus se aíslan con más frecuencia en pacientes inmunodeprimidos, que pueden enfermar. El virus BK causa cistitis hemorrágica en los receptores de trasplantes

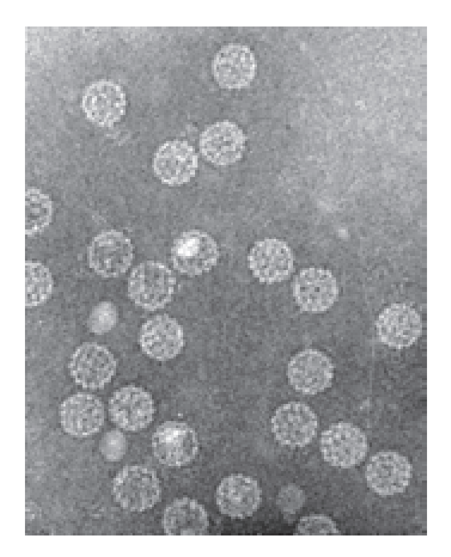


FIGURA 43-6 Poliomavirus SV40. Preparación purificada con tinción negativa a fase de fosfotungstato (150 000×). (Cortesía de S McGregor y H Mayor.)

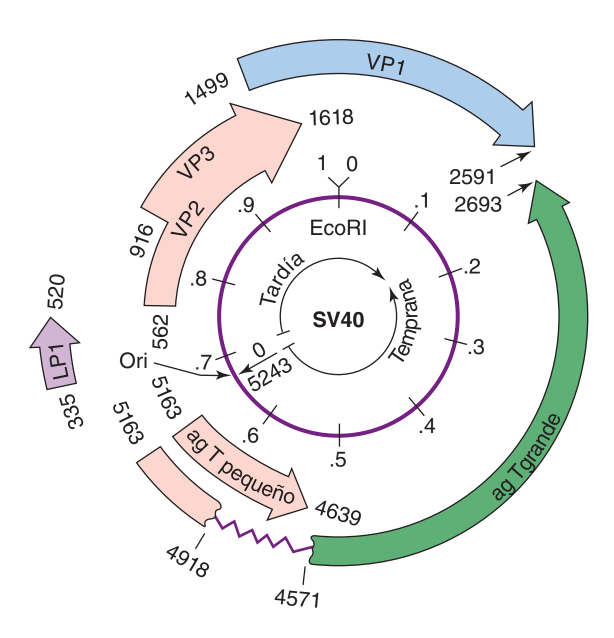


FIGURA 43-7 Mapa genómico del poliomavirus SV40. El círculo grueso representa el genoma circular del DNA de SV40. En la unidad del mapa 0/1 se muestra el sitio único de restricción *Eco*RI. Los números de los nucleótidos empiezan y terminan en el origen (Ori) de la replicación del DNA viral (0/5243). Las cajas con extremo en flecha indican los marcos abiertos de lectura que codifican las proteínas virales. El sentido de las flechas indica la dirección de la transcripción; el inicio y final de cada marco abierto de lectura se indica con los números de los nucleótidos. Las diversas sombras señalan los distintos marcos de lectura utilizados para los distintos polipéptidos virales. Nótese que el antígeno T (T-ag) está codificado por dos segmentos no contiguos en el genoma. El genoma se divide en una región "temprana" y otra "tardía" que se expresan antes y después de iniciada la replicación del DNA viral, respectivamente. Sólo la región temprana se expresa en las células transformadas. (Reimpresa con autorización de Butel JS, Jarvis DL: Biochim Biophys Acta 1986;865:171.)

de médula ósea. Constituye la causa de la nefropatía por poliomavirus en los receptores de un trasplante renal, enfermedad grave que aparece hasta en 5% de los receptores y que provoca el fracaso del injerto hasta en 50% de los pacientes. El virus JC es la causa de la leucoencefalopatía multifocal progresiva (PML, *progressive multifocal leukoencephalopathy*), enfermedad mortal que ocurre en los mismos pacientes inmunodeprimidos, especialmente aquellos con deficiencia de la inmunidad celular por el tratamiento inmunosupresor o por una infección por virus de inmunodeficiencia humana. Cerca de 5% con SIDA padece leucoencefalopatía multifocal progresiva. Ambos virus son distintos desde el punto de vista antigénico, pero los dos codifican un antígeno T que es afin al antígeno T SV40. Estos virus humanos transforman células de roedores e inducen tumores en hámsters recién nacidos. El virus JC se ha vinculado con tumores cerebrales de ser humano, pero aún no se establece su participación causal.

Los virus KI y WU se descubrieron en el año 2007 en muestras de aspiración nasofaríngea obtenidas de niños con infecciones de las vías respiratorias. El poliomavirus de células de Merkel se identificó en el año 2008 en carcinomas de células de Merkel, tumores raros de la piel de origen neuroendocrino. Los estudios de seroprevalencia indican que las infecciones por virus KI, WU y de células de Merkel están bastante extendidas y probablemente se presentan en la niñez. En vista de estos descubrimientos recientes, la información sobre la relación con alguna enfermedad es muy limitada, pero al parecer el DNA de los virus de células de Merkel está presente e integrada en gran parte de los carcinomas de células de Merkel.

El SV40 se replica en ciertos tipos de células de mono y seres humanos; es altamente tumorígeno en hámsters y ratones transgénicos inoculados en forma experimental y tienen el potencial de transformar diversos tipos de células en cultivos. Rara vez se observa inducción de un tumor en el hospedador natural —el mono rhesus. El SV40 genera una enfermedad similar a la PML en el mono rhesus.

El SV40 contaminó varios de los primeros lotes de vacuna contra la polio a base de virus vivos y muertos que se habían cultivado en células de mono. Millones de personas en el mundo recibieron estas vacunas contaminadas entre 1955 y 1963. En la actualidad se detecta SV40 en muchas personas, incluso individuos demasiado jóvenes como para haber recibido la vacuna. La evidencia sugiere que este (y otros poliomavirus) se pueden transmitir por vía fecal-oral en el ser humano. Aparentemente la frecuencia de las infecciones por SV40 en el hombre es reducida.

Se ha detectado DNA de SV40 en algunos tipos de tumores humanos, como tumores cerebrales, mesoteliomas, tumores óseos y linfomas. Se está investigando la participación del SV40 en la generación de cánceres en el ser humano.

La variedad de hospedadores de los poliomavirus por lo general es muy limitada. Casi siempre infectan una sola especie y sólo determinados tipos de células dentro de esa especie. Las excepciones son los poliomavirus de primate SV40 y BK; SV40 también infecta al humano y células humanas y el virus BK infecta algunos monos y células de mono. El virus puede transformar los tipos de células que no permiten la replicación de los poliomavirus.

PAPILOMAVIRUS

En el cuadro 43-6 se enumeran las principales propiedades de los papilomavirus.

CUADRO 43-6 Propiedades importantes de los papilomavirus[a]

Virión: Icosaédrico, 55 nm de diámetro
Composición: DNA (10%), proteínas (90%)
Genoma: DNA bicatenario, circular, 8 kbp, PM 5 millones
Proteínas: Dos proteínas estructurales; las histonas celulares condensan DNA en el virión
Cubierta: Ninguna
Replicación: Núcleo
Características principales: Estimula la síntesis de DNA celular Gama de hospedadores y tropismo hístico limitado Causa importante de cáncer en el humano, especialmente cervicouterino Las oncoproteínas virales interactúan con las proteínas supresoras de tumores celulares

[a]Antiguamente clasificado dentro de la familia Papovaviridae.

Clasificación

La familia Papilomaviridae es una familia muy grande de virus que en la actualidad se divide en 16 géneros, de los cuales cinco contienen miembros que infectan al ser humano (*Alfa-papilomavirus, Beta-papilomavirus, Gamma-papilomavirus, Mupapapilomavirus* y *Nupapapilomavirus*). Los papilomavirus antiguamente formaban parte de la familia Papovaviridae. Si bien los papilomavirus y poliomavirus comparten numerosas similitudes morfológicas, de composición de ácidos nucleicos y de potencial de transformación, las diferencias en la organización de su genoma y en su biología provocó su separación en familias distintas. El diámetro de los papilomavirus es un poco mayor (55 nm) que el de los poliomavirus (45 nm) y contienen un genoma más grande (8 frente a 5 kbp). La organización del genoma de los papilomavirus es más compleja (fig. 43-8). La diversidad entre los papilomavirus es extendida. No se pueden llevar a cabo pruebas de neutralización puesto que no existe análisis *in vitro* de su potencial infeccioso, de manera que las cepas aisladas de papilomavirus se clasifican por medio de criterios moleculares. Los "tipos de virus" tienen una diferencia cuando menos de 10% en la secuencia de sus genes L1. Se han obtenido casi 200 tipos diferentes de papilomavirus humanos.

Replicación de los papilomavirus

Los papilomavirus son altamente trópicos para las células epiteliales de la piel y mucosas. Es posible encontrar ácido nucleico viral en las células troncales basales, pero la expresión genética tardía (proteínas de la cápside) se limita a la capa superior de queratinocitos diferenciados (fig. 43-9). Las fases del ciclo de replicación viral dependen de ciertos factores presentes en los estados diferenciados secuenciales de las células epiteliales. Esta subordinación tan poderosa de la replicación viral en el estado diferenciado de la célula hospedadora es el origen de las dificultades para propagar al papilomavirus *in vitro*.

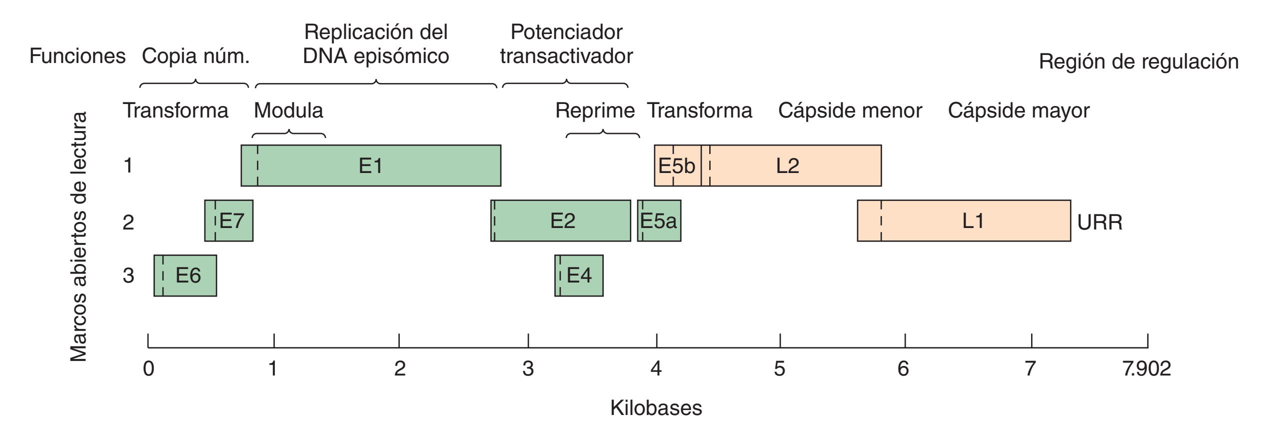


FIGURA 43-8 Mapa del genoma del papilomavirus humano (HPV-6, 7.902 pares de bases). El genoma del papilomavirus es circular pero se muestra rectificado en la región reguladora río arriba (URR, *upstream regulatory region*). Esta región reguladora río arriba contiene el origen de la replicación y las secuencias promotora y potenciadora. Se muestran los marcos abiertos de lectura tanto tempranos (E1-E7) como tardíos (L1, L2) y sus funciones. Los marcos abiertos de lectura se encuentran en la misma cadena de DNA viral. Las funciones biológicas se han extrapolado a partir de estudios con papilomavirus de bovino. La organización del genoma del papilomavirus es mucho más compleja que la del poliomavirus típico (compárese con la figura 43-7). (Reimpresa con autorización de Broker TR: Structure and genetic expression of papillomaviruses. Obstet Gynecol Clin North Am 1987;14:329.)

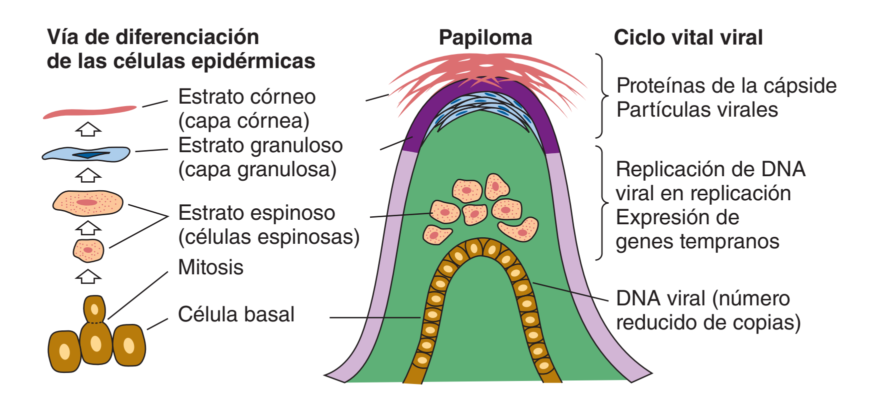


FIGURA 43-9 Representación esquemática de una verruga cutánea (papiloma). El ciclo vital del papilomavirus está ligado a la diferenciación de las células epiteliales. En el lado izquierdo se muestra la vía terminal de diferenciación de las células epidérmicas. Los acontecimientos en el ciclo vital del virus se muestran en el lado derecho. Los últimos acontecimientos de la replicación viral (síntesis de proteínas de la cápside y morfogénesis del virión) sólo ocurren en las células con diferenciación terminal. (Reimpresa con autorización de Butel JS: Papovaviruses. En: *Medical Microbiology*, 3rd ed. Baron S [editor]. Churchill Livingstone, 1991.)

Patogenia y anatomía patológica

Las infecciones virales se transmiten por contacto cercano. Las partículas virales se liberan de la superficie de las lesiones papilomatosas. Probablemente las microlesiones permiten la infección de las células de la capa basal proliferante en otros sitios o en distintos hospedadores.

Los papilomavirus infectan la piel y mucosas; provocan en ocasiones distintos tipos de verrugas como las cutáneas, plantares, planas, anogenitales, papilomas laríngeos y diversos cánceres, incluidos el cervicouterino, vulvar, del pene y anal y un subgrupo de cánceres de cabeza y cuello (cuadro 43-7). Los múltiples tipos de cepas aisladas de HPV se vinculan con determinadas lesiones clínicas, aunque las pautas de distribución no son absolutas. Las infecciones genitales por HPV se transmiten por vía sexual y constituyen una de las enfermedades de transmisión sexual más frecuentes en Estados Unidos. El cáncer cervicouterino es el segundo cáncer más frecuente en las mujeres en todo el mundo (alrededor de 500 000 casos nuevos anuales) y constituye la causa principal de muerte por cáncer en los países subdesarrollados.

Con base en la frecuencia relativa de DNA viral en determinados cánceres, los tipos 16 y 18 de HPV se consideran de riesgo cancerígeno elevado; otros 15 tipos menos frecuentes también se consideran de alto riesgo. Muchos tipos se consideran benignos.

Las células del cáncer cervicouterino casi siempre contienen copias integradas de DNA viral, si bien el DNA del HPV no suele integrarse (episódico) en las células no cancerosas o lesiones premalignas. Aparentemente los carcinomas cutáneos albergan genomas de HPV en estado episódico. Las proteínas tempranas virales E6 y E7 se sintetizan en el tejido canceroso. Éstas son proteínas transformadoras de HPV que pueden formar complejos con Rb, p53 y otras proteínas celulares (cuadro 43-4).

El comportamiento de las lesiones por HPV depende de una serie de factores inmunológicos. Es muy importante la inmunidad celular. Casi todas las infecciones por HPV desaparecen en un lapso de dos a tres años.

El cáncer cervicouterino evoluciona lentamente, algunas veces a lo largo de varios años o décadas. Se cree que numerosos factores participan en la evolución maligna; sin embargo, un componente necesario para este proceso es la infección persistente por un HPV de alto riesgo (fig. 43-10).

Manifestaciones clínicas y epidemiología

Se calcula que en el mundo 660 millones de personas padecen infecciones genitales por HPV, lo que las convierten en las infecciones virales más frecuentes del aparato reproductor. Se calcula que en Estados Unidos se producen alrededor de 6.2 millones de infecciones nuevas cada año. Las infecciones por HPV alcanzan su punto máximo en los adolescentes y jóvenes adultos menores de 25 años de edad.

Se sabe que los HPV causan los cánceres anogenitales. Más de 99% de los cánceres cervicouterinos y más de 80% de los anales tienen relación estrecha con las infecciones genitales por papilomavirus humano. Los papilomavirus ilustran el concepto de que el potencial oncógeno de las cepas virales naturales es variable. Si bien muchos tipos distintos de HPV pueden causar infecciones genitales, los más frecuentes en el carcinoma cervical son HPV-16 o HPV-18, aunque algunos cánceres contienen DNA de otros tipos como es el caso del HPV-31. Los estudios epidemiológicos indican que HPV-16 y HPV-18 constituyen la causa de más de 70% de los cánceres cervicouterinos y el más frecuente es el tipo 16. Las células HeLa, línea celular de células para cultivos de tejidos que se obtuvo desde hace muchos años a partir de un carcinoma cervicouterino, contienen DNA de HPV-18.

El cáncer anal está muy relacionado con la infección de alto riesgo por papilomavirus humano. Los pacientes con mayor predisposición son los individuos inmunodeprimidos, así como los varones que tienen relaciones homosexuales. Los cánceres bucofaríngeos, subgrupo de carcinomas escamosos de cabeza y cuello, también están ligados con infecciones por el HPV, en especial por el tipo 16.

Ya se ha demostrado que el hombre es portador del HPV y además vector de las infecciones; sin embargo, la mayor parte de las infecciones de pene por HPV es subclínica y no produce ninguna enfermedad por el papilomavirus humano.

Por lo general las verrugas anogenitales (90%) son producidas por HPV de bajo riesgo tipos 6 y 11. Los papilomas laríngeos en

CUADRO 43-7 Ejemplos de relación entre papilomavirus humano y lesiones clínicas

Tipo de Papilomavirus humano[a]	Lesión clínica	Potencial oncógeno sospechado
1	Verrugas plantares	Benigno
2, 4, 27, 57	Verrugas cutáneas comunes	Benigno
3, 10, 28, 49, 60, 76, 78	Lesiones cutáneas	Bajo
5, 8, 9, 12, 17, 20, 36, 47	Epidermodisplasia verruciforme	Principalmente benigno, pero algunos se malignizan
6, 11, 40, 42-44, 54, 61, 70, 72, 81	Condilomas anogenitales; papilomas laríngeos; displasias y neoplasias intraepiteliales (mucosas)	Bajo
7	Verrugas en las manos de los carniceros	Bajo
16, 18, 30, 31, 33, 35, 39, 45, 51-53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82	Neoplasias malignas y carcinomas de la mucosa genital; carcinoma laríngeo y esofágico	Gran correlación con carcinomas genitales y bucales, especialmente cervicouterino

[a]No se mencionan todos los tipos de Papilomavirus.

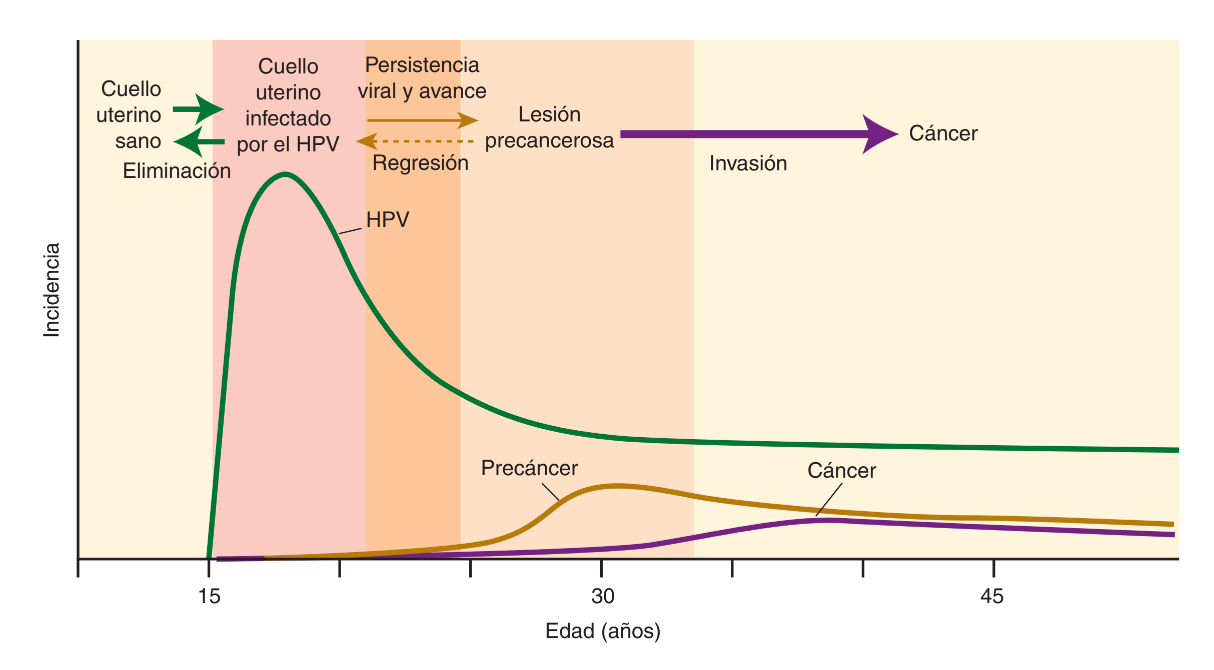


FIGURA 43-10 Relación entre la infección cervicouterina por HPV, precáncer y cáncer. La curva de HPV muestra la frecuencia tan elevada de esta infección poco después de que la mujer empieza su actividad sexual y el descenso ulterior debido a que muchas infecciones se resuelven espontáneamente. La curva de la frecuencia precancerosa ilustra un retraso entre la adquisición de la infección por el HPV y el comienzo de la lesión precancerosa y que sólo un subgrupo de mujeres infectadas desarrolla una lesión precancerosa. La curva de incidencia de cáncer muestra un intervalo relativamente prolongado entre la lesión precancerosa y su progresión a un cáncer invasor. (Reimpresa de Lowy DR, Schiller JT: Prophylactic human papillomavirus vaccines. J Clin Invest 2006;116:1167. Modificada con autorización de Schiffman M, Castle PE: The promise of global cervical-cancer prevention. N Engl J Med 2005;353:2101.)

los niños, también llamados papilomatosis respiratoria recurrente, son producidos por HPV-6 y HPV-11, los mismos virus que causan los condilomas genitales benignos. Esta infección se adquiere al atravesar el canal del parto en una mujer con verrugas genitales. Los papilomas laríngeos son raros, pero algunas veces obstruyen la laringe y deben ser extirpados en repetidas ocasiones por medios quirúrgicos. Cada año se diagnostican aproximadamente 3 000 casos de esta enfermedad; hasta 3% de estos niños muere.

En la piel normal de los individuos sanos con frecuencia existe DNA del papilomavirus humano. Al parecer estas infecciones asintomáticas se adquieren desde la infancia. En la piel sana se detecta una gran diversidad del virus referido. Se cree que se transmite por contacto directo de varias personas con un niño infectado, lo cual es congruente con la incidencia elevada (un 60%) de los tipos detectados en lactantes y sus madres.

En los pacientes con inmunodepresión la frecuencia de verrugas y cáncer cervicouterino es mayor. Todos los cánceres ligados al HPV son más frecuentes en personas con el VIH/SIDA.

Prevención y control

Se espera que las vacunas contra el HPV sean una manera rentable de reducir las infecciones anogenitales por el virus, la frecuencia del cáncer cervicouterino y la carga sanitaria que representa el papilomavirus humano. En Estados Unidos se aprobó el uso de una vacuna tetravalente contra HPV en el año 2006 y de una vacuna bivalente en el 2007. Ambas son vacunas recombinantes no infecciosas que contienen vacunas similares a virus compuestas por proteínas L1 del papilomavirus humano. La vacuna tetravalente contiene partículas derivadas del HPV tipos 6, 11, 16 y 18, mientras que la bivalente contiene partículas de los tipos 16 y 18. Ambas son efectivas para prevenir las infecciones persistentes por los tipos de HPV a los que están dirigidos y la aparición de lesiones precancerosas genitales por el virus referido. No son efectivas contra la infección por HPV establecida. La población que debe recibir inicialmente esta vacuna consta de adolescentes y mujeres jóvenes. No se conoce la duración de la inmunidad inducida por la vacuna, pero al parecer se extiende cuando menos durante cinco años.

No se recomienda la vacuna contra HPV en embarazadas.

ADENOVIRUS

Los adenovirus (cap. 32) comprenden un grupo grande de microorganismos ampliamente distribuidos en la naturaleza. Son virus de tamaño mediano y sin cubierta que contienen un genoma lineal de DNA bicatenario (26 a 45 kbp). Su replicación es específica de especie, se lleva a cabo en las células del hospedador natural. Los adenovirus infectan con frecuencia al ser humano, generando una enfermedad aguda leve, principalmente del tracto respiratorio e intestinos.

Los adenovirus pueden transformar células de roedor e inducir la síntesis específica de antígenos tempranos específicos del virus tanto en el núcleo como en el citoplasma de las células transformadas. La proteína temprana E1A forma complejos con las proteínas celulares Rb y muchas otras proteínas de la célula. Otras proteínas tempranas, E1B y E4ORF1, se unen con p53 y otras proteínas de señalización celular (cuadro 43-4). Los adenovirus son modelos importantes para estudiar los mecanismos moleculares por medio de los cuales los virus de DNA oncógenos se apoderan de los mecanismos que regulan la proliferación

celular. Los diversos serotipos de adenovirus manifiestan distintos grados de oncogenicidad en los hámsters recién nacidos. No se ha encontrado relación entre los adenovirus y las neoplasias del ser humano.

HERPESVIRUS

Estos virus grandes (diámetro de 125 a 200 nm) contienen un genoma lineal de DNA bicatenario (125 a 240 kbp) y poseen una cápside con simetría icosaédrica rodeada de una cubierta externa que contiene lípidos. Los herpesvirus (cap. 33) generan infecciones agudas seguidas de latencia y recurrencias en cada hospedador, incluido el ser humano.

En la especie humana los herpesvirus se han relacionado con diversos tipos de tumores. El herpesvirus EBV produce la infección aguda llamada mononucleosis cuando infecta a los linfocitos B de las personas susceptibles. Los linfocitos normales del ser humano tienen una vida media limitada *in vitro*, pero el EBV inmortaliza a los linfocitos formando líneas celulares linfoblásticas que proliferan indefinidamente en cultivos.

El EBV tiene relación causal con el linfoma de Burkitt, tumor más frecuente en los niños de África central; el carcinoma nasofaríngeo, que es más frecuente entre los chinos cantoneses y los esquimales de Alaska que en otras poblaciones; los linfomas después de un trasplante, y la enfermedad de Hodgkin. Estos tumores por lo general contienen DNA del virus EBV (tanto en forma integrada como episódica) y antígenos virales.

El EBV codifica una proteína oncogénica viral (LMP1) que simula un receptor activado del factor de crecimiento. La LMP1 puede transformar fibroblastos de roedor y es indispensable para la transformación de los linfocitos B (cuadro 43-4). Se necesitan diversos antígenos nucleares codificados por EBV (EBNA) para la inmortalización de las células B; EBNA1 es la única proteína viral que se expresa de manera consistente en las células del linfoma de Burkitt. El EBV logra evitar la eliminación inmunitaria de manera exitosa debida, tal vez en parte, a la función de EBNA1 en la inhibición del procesamiento del antígeno que permite a las células infectadas escapar de la muerte por efectos de los linfocitos T citotóxicos.

Probablemente el paludismo es un cofactor del linfoma de Burkitt africano. La mayor parte de estos tumores exhibe además translocaciones cromosómicas características entre el gen c-*myc* y los loci de inmunoglobulinas, provocando la activación constitutiva de la expresión de *myc*. El consumo de pescado salado o seco quizá constituye un cofactor alimentario en el carcinoma nasofaríngeo vinculado con el virus de Epstein-Barr.

El herpesvirus ligado al sarcoma de Kaposi, también conocido como herpesvirus humano 8 (KSHV/HHV8), no es tan ubicuo como otros herpesvirus humanos. Se cree que constituye la causa del sarcoma de Kaposi, linfoma con derrame primario y enfermedad multicéntrica de Castleman, trastorno linfoproliferativo. El KSHV posee varios genes relacionados con genes de regulación celular que estimulan la proliferación de las células y modifican los mecanismos de defensa del hospedador.

Algunos herpesvirus producen tumores en animales inferiores. La enfermedad de Marek es una enfermedad linfoproliferativa del pollo altamente contagiosa que se puede prevenir vacunándolos con una cepa atenuada del virus de esta enfermedad. En este caso, la prevención del cáncer por medio de la vacuna confirma que el virus es la causa y sugiere la posibilidad de un método similar para prevenir los tumores con un virus causal similar en el humano. Otros ejemplos de tumores inducidos por herpesvirus en animales son los linfomas de algunos tipos de monos y adenocarcinomas de ranas. Los virus de simio generan infecciones ocultas en sus hospedadores naturales pero inducen linfomas malignos de células T cuando se transmiten a determinadas especies de monos.

POXVIRUS

Los poxvirus (cap. 34) son virus grandes con forma de ladrillo y un genoma lineal de DNA bicatenario (130 a 375 kbp). El virus de Yaba produce tumores benignos (histiocitomas) en su hospedador natural, que es el mono. El virus del fibroma de Shope produce fibromas en algunos conejos y modifica las células en cultivo. El virus del molusco contagioso produce tumores benignos pequeños en el ser humano. Se sabe muy poco sobre la naturaleza de estas enfermedades proliferativas, pero quizá participa un factor de crecimiento codificado por el poxvirus que está relacionado con los factores de crecimiento epidérmicos y el factor transformador del crecimiento.

VIRUS DE HEPATITIS B Y C

El virus de hepatitis B (cap. 35) es miembro de la familia Hepadnaviridae y se caracteriza por viriones esféricos de 42 nm con un genoma circular de DNA bicatenario (3.2 kbp). Una cadena de DNA es incompleta y de longitud variable. El mayor obstáculo para estudiar el virus es que no se ha podido multiplicar en cultivo celular.

Además de producir hepatitis, el virus de hepatitis B es un factor de riesgo de desarrollo de cáncer hepático en humanos. Los estudios epidemiológicos y de laboratorio han comprobado que la infección persistente por el virus de la hepatitis B es una causa importante de hepatopatía crónica y carcinoma hepatocelular. Las infecciones por el virus de la hepatitis B en los adultos casi siempre se resuelven, pero las infecciones primarias en los neonatos y niños pequeños tienden a la cronicidad hasta en 90% de los casos. Estas infecciones persistentes por el virus de la hepatitis B que atacan desde el principio de la vida aumentan el riesgo de padecer carcinoma hepatocelular más adelante. El mecanismo de la oncogénesis aún no se conoce. La infección viral persistente provoca necrosis, inflamación y regeneración hepática que, con el tiempo, generan cirrosis; en este contexto se origina un carcinoma hepatocelular. La proteína transactivadora del virus de hepatitis B, proteína X, es potencialmente una oncoproteína viral potencial. El carcinógeno alimentario aflatoxina quizá es un cofactor para el carcinoma hepatocelular, especialmente en África y China.

El advenimiento de una vacuna efectiva contra hepatitis B para prevenir la infección primaria despertó la posibilidad de prevenir el carcinoma hepatocelular, especialmente en las áreas del mundo donde la infección por el virus de la hepatitis B es hiperendémica (p. ej., África, China, sureste asiático). Veinte años después de iniciado el programa universal de vacunación contra la hepatitis B en Taiwán, la frecuencia de hepatitis B crónica y cáncer hepático se han reducido considerablemente.

Las marmotas constituyen un modelo excelente para el estudio de la infección por virus de la hepatitis B en el hombre. Un virus similar, el virus de hepatitis de la marmota, tanto en la marmota recién nacida como en la adulta produce una infección crónica y muchas de ellas desarrollan carcinoma hepatocelular en los siguientes tres años.

El virus de la hepatitis C (cap. 35) es miembro de la familia Flaviviridae y contiene un genoma de RNA monocatenario de 9.4 kilobases. Al parecer la mayor parte de las infecciones es persistente, incluso en los adultos. La infección crónica por el virus de la hepatitis C también se considera un factor causal del carcinoma hepatocelular. Probablemente el virus actúa de manera indirecta en la génesis del carcinoma.

Actualmente existen alrededor de 250 millones de personas en el mundo infectadas por el virus de hepatitis B y más de 170 millones son portadoras crónicas del virus de hepatitis C, lo que constituye un reservorio muy grande de individuos con riesgo de padecer cáncer hepático.

MÉTODO PARA COMPROBAR QUE UN VIRUS CAUSA CÁNCER EN SERES HUMANOS

Es claro que los virus participan en la génesis de diversos tipos de tumores del ser humano. Sin embargo, en general es difícil comprobar que existe una relación causal entre el virus y determinado tipo de cáncer.

Cuando un virus constituye el único elemento causal de un cáncer específico, la distribución geográfica de la infección viral debe coincidir con la del tumor; la presencia de marcadores virales debe ser mayor en los casos que en los testigos, y la infección viral debe preceder al tumor. Estos criterios en ocasiones son difíciles de establecer cuando otros factores ambientales o genéticos producen algunos casos del mismo tipo de cáncer. Sólo si la expresión continua de la función viral es necesaria para mantener la transformación, los genes virales persistirán de manera obligada en cada célula tumoral. Si el virus aporta el primer paso en la carcinogénesis de pasos múltiples, el genoma viral quizá se pierde conforme el tumor avanza hacia fases más alteradas. Por el contrario, en ocasiones el virus se relaciona frecuentemente con un tumor, pero sólo es un pasajero a causa de cierta afinidad por el tipo celular.

Los virus oncógenos por lo general no se replican en las células transformadas, por lo que es necesario utilizar métodos muy sensibles para buscar ácidos nucleicos o proteínas virales en las células con el fin de identificar la presencia del virus. A menudo no se expresan las proteínas estructurales virales, pero las proteínas no estructurales codificadas por el virus se expresan como marcadores de la presencia viral.

La inducción de un tumor en animales de laboratorio y la transformación de células humanas en cultivo constituyen buenas líneas circunstanciales de evidencia de que un virus es tumorígeno y estos sistemas ofrecen modelos para el análisis molecular de la transformación. Sin embargo, no constituyen una prueba de que el virus cause determinado cáncer en personas.

La prueba más definitiva de una relación causal es disminuir la incidencia de tumores al prevenir la infección viral. Los métodos intervencionistas deben ser efectivos para reducir el cáncer, aunque el virus sea sólo uno de varios cofactores.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Los virus pueden causar cáncer en animales y seres humanos. Uno de los principios de la carcinogénesis viral es que
   (A) Los retrovirus causan la mayor parte de los cánceres en el ser humano
   (B) No todas las infecciones por virus oncógenos humanos provocan la formación de tumores
   (C) Entre la infección viral y la aparición del tumor transcurre un periodo de latencia corto
   (D) Los modelos de animales rara vez pronostican los mecanismos celulares en el cáncer humano
   (E) La repercusión de los factores del hospedador en el cáncer humano inducido por virus es insignificante
2. Los oncogenes celulares representan genes activados que participan en el cáncer. Otra clase de genes cancerígenos participa en la producción de cáncer únicamente cuando se desactivan ambos alelos del gen. La segunda clase de genes se denomina
   (A) Protooncogenes
   (B) Genes de antígeno T
   (C) Genes supresores tumorales
   (D) Genes transducidos
   (E) Genes silenciosos
3. Una mujer de 38 años de edad ha tenido varias parejas sexuales a lo largo de su vida y con diagnóstico de cáncer cervicouterino. Este cáncer es frecuente en todo el mundo y su causa está muy relacionada con un virus que se transmite por vía sexual. El microorganismo causal del cáncer cervicouterino en el ser humano es
   (A) Virus de hepatitis C
   (B) Virus de hepatitis B
   (C) Papilomavirus humano, tipos de alto riesgo
   (D) Poliomavirus
   (E) Herpesvirus
4. Los retrovirus codifican una enzima llamada transcriptasa inversa. La función de esta enzima es
   (A) Actividad de DNasa
   (B) Actividad de DNA polimerasa dependiente de RNA
   (C) Actividad de RNA polimerasa dependiente de DNA
   (D) Actividad de RNA polimerasa dependiente de RNA
   (E) Actividad de topoisomerasa
5. Dos meses después de un trasplante renal, un varón de 47 años de edad manifiesta nefropatía. Hasta 5% de los receptores de un aloinjerto renal padece de nefropatía. La causa viral de algunos casos de nefropatía es
   (A) Poliomavirus BK
   (B) Papilomavirus humano, todos los tipos
   (C) Papilomavirus humano, tipos de bajo riesgo
   (D) Virus de hepatitis C
   (E) Citomegalovirus humano
6. El papilomavirus humano causa cáncer en el hombre y se relaciona con más frecuencia con
   (A) Pólipos rectales
   (B) Cáncer mamario
   (C) Cáncer de próstata
   (D) Cánceres anogenitales
   (E) Mesotelioma
7. Un virus que causa cáncer en el hombre también se relaciona con un trastorno del sistema nervioso llamado paraparesia espástica tropical. Este virus es
   (A) Poliomavirus JC
   (B) Poliomavirus SV40
   (C) Virus de herpes simple
   (D) Virus linfotrópico humano de células T
   (E) Virus de inmunodeficiencia humana

8. El poliomavirus codifica oncoproteínas llamadas antígenos T. Estos productos genéticos virales
   (A) No son necesarios para la replicación viral
   (B) Interactúan con las proteínas supresoras de tumores celulares
   (C) Funcionan para integrar al provirus viral en el cromosoma celular
   (D) Mutan rápidamente para permitir que el virus escape a la eliminación inmunitaria del hospedador
   (E) No pueden transformar células en cultivo
9. Los virus oncógenos se clasifican en diversas familias virales. Las familias siguientes de virus contienen un virus oncógeno humano con un genoma de RNA
   (A) Adenoviridae
   (B) Herpesviridae
   (C) Hepadnaviridae
   (D) Papilomaviridae
   (E) Flaviviridae
10. Los papilomas laríngeos en los niños suelen ser causados por los mismos virus que producen los condilomas genitales benignos. Estos virus son
   (A) Papilomavirus tipos 6 y 11
   (B) Poliomavirus JC
   (C) Virus de Epstein-Barr
   (D) Virus del molusco contagioso
   (E) Papilomavirus tipos 16 y 18
11. Las vacunas contra los tipos más comunes de HPV que causan infecciones genitales fueron aprobadas en los años 2006 y 2007. Se deben utilizar en las poblaciones siguientes:
   (A) Todos los adultos, tanto varones como mujeres
   (B) Todas las mujeres adultas
   (C) Mujeres con lesiones cervicales precancerosas
   (D) Adolescentes y adultos jóvenes, tanto niños como niñas
   (E) Adolescentes y mujeres adultas jóvenes
12. ¿Qué característica describe mejor las vacunas existentes contra HPV?
   (A) Virus vivos atenuados
   (B) Virus vivos recombinantes
   (C) Subunidad no infecciosa
   (D) Toxoides

Respuestas

1. B	4. B	7. D	10. A
2. C	5. A	8. B	11. E
3. C	6. D	9. E	12. C

BIBLIOGRAFÍA

Brechot C (guest editor): Hepatocellular carcinoma. Oncogene Rev 2006;25:3753. [Entire issue.]

Butel JS: Viral carcinogenesis: Revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease. Carcinogenesis 2000;21:405. [PMID: 10688861]

Chang MH: Cancer prevention by vaccination against hepatitis B. Recent Results Cancer Res 2009;181:85. [PMID: 19213561]

Dalianis T, Ramqvist T, Andreasson K, Kean JM, Garcea RL: KI, WU and Merkel cell polyomaviruses: A new era for human polyomavirus research. Semin Cancer Biol 2009;19:270. [PMID: 19416753]

de Villiers EM et al: Classification of papillomaviruses. Virology 2004;324:17. [PMID: 15183049]

Goff SP: Retroviridae: The retroviruses and their replication. In: *Fields Virology,* 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Howley PM, Lowy DR: Papillomaviruses. In: *Fields Virology,* 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Human papillomavirus vaccines. WHO position paper. Wkly Epidemiol Rec 2009;84:118.

Imperiale MJ, Major EO: Polyomaviruses. In: *Fields Virology,* 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Javier RT, Butel JS: The history of tumor virology. Cancer Res 2008;68:7693. [PMID: 18829521]

Jeang KT, Yoshida M (guest editors): HTLV-1 and adult T-cell leukemia: 25 years of research on the first human retrovirus. Oncogene Rev 2005;24:5923. [Entire issue.]

Jones-Engel L et al: Diverse contexts of zoonotic transmission of simian foamy viruses in Asia. Emerg Infect Dis 2008;14:1200. [PMID: 18680642]

Kean JM, Rao S, Wang M, Garcea RL: Seroepidemiology of human polyomaviruses. PLoS Pathogens 2009;5:e1000363. [PMID: 19325891]

Khalili K, Raab-Traub N (editors): Cancer viruses. Oncogene Rev 2003;22 (No. 2). [Entire issue.]

Münger K et al: Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. J Virol 2004;78:11451. [PMID: 15479788]

Parsonnet J (editor): *Microbes and Malignancy: Infection as a Cause of Human Cancers.* Oxford University Press, 1999.

Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S: Human papillomavirus and cervical cancer. Lancet 2007;370:890. [PMID: 17826171]

Shroyer KR, Dunn ST (editors): Update on molecular diagnostics for the detection of human papillomavirus. J Clin Virol 2009;45 (Suppl 1):S1. [Entire issue.]

Trottier H, Franco EL: The epidemiology of genital human papillomavirus infection. Vaccine 2006;24(Suppl 1):S1. [PMID: 16406226]

C A P Í T U L O

44

SIDA y lentivirus

Los virus de inmunodeficiencia humana (VIH), derivados de lentivirus de primates, constituyen los agentes etiológicos del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). La enfermedad fue descrita originalmente en 1981 y se aisló al VIH-1 a finales de 1983. Desde esa fecha el SIDA adquirió el carácter de epidemia mundial y su ataque y magnitud se ampliaron al grado de que las infecciones por VIH han afectado poblaciones y regiones geográficas diferentes. En la actualidad la infección alcanza niveles planetarios; la persona, una vez infectada, lo sigue siendo durante toda su vida. En término de un decenio, sin tratamiento, la mayor parte de los individuos infectados por el virus terminan por mostrar infecciones letales por oportunistas como consecuencia de las deficiencias inducidas por dicha partícula en el sistema inmunitario. El SIDA es uno de los problemas de salud pública más importantes en el mundo de comienzos del siglo XXI. Uno de los grandes progresos en este terreno ha sido la creación de la terapia antirretroviral altamente activa (HAART, *highly active antiretroviral therapy*) para suprimir por largo tiempo la réplica del virus y evitar el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

PROPIEDADES DE LOS LENTIVIRUS

En el cuadro 44-1 se muestra un resumen de las propiedades importantes de los lentivirus, que son miembros del género de la familia **Retroviridae**.

Estructura y composición

El VIH es un retrovirus, miembro del género *Lentivirus* y posee muchas de las características fisicoquímicas típicas de la familia (cap. 43). La característica morfológica peculiar del VIH es poseer un nucleoide cilíndrico en el virión maduro (fig. 44-1). El nucleoide en forma de barra y que constituye un signo diagnóstico es visible en la micrografía electrónica en las partículas extracelulares cuando son seccionadas en el ángulo apropiado.

El genoma del RNA de los lentivirus es más complejo que el de los lentivirus transformantes (fig. 44-2). Los lentivirus contienen los cuatro genes necesarios para la replicación de un lentivirus que son *gag, pro, pol* y *env* y cumplen con las características generales de replicación de los retrovirus (cap. 43). Se sabe que hasta seis genes adicionales regulan la expresión viral y son importantes en la patogenia de la enfermedad *in vivo*. Dichos genes auxiliares poseen poca homología de secuencias entre los lentivirus, pero conservan sus funciones (los virus de felinos y ungulados codifican menos genes accesorios). La proteína Tat, que es una de las que intervienen en la réplica de fase temprana, actúa en la "transactivación" en la cual el producto de un gen viral participa en la activación transcriptiva de otros genes del virus. La transactivación por parte del VIH es muy eficiente y puede contribuir a la naturaleza virulenta de las infecciones por dicha partícula. La proteína Rev se necesita para la expresión de las proteínas estructurales virales; facilita la exportación desde el núcleo de transcritos virales no empalmados. Las proteínas estructurales son traducidas a partir de mRNA no empalmados en la fase tardía de la replicación viral. La proteína Nef intensifica la infectividad del virus, facilita la activación de linfocitos T inactivos y disminuye la expresión de las células CD4 y de la clase I del complejo principal de histocompatibilidad (MHC, *major histocompatibility complex*). El gen *nef* es necesario para que el virus de inmunodeficiencia de simios (VIS) sea patógeno para los monos. La proteína Vpr incrementa el transporte del

CUADRO 44-1 Propiedades importantes de los lentivirus (retrovirus no oncógenos)

Virión: Esférico, de 80 a 100 nm de diámetro y centro cilíndrico
Genoma: RNA monocatenario, lineal, en sentido positivo, de 9 a 10 kb, diploide; el genoma es más complejo que el de retrovirus oncógenos y contiene incluso seis genes adicionales de replicación
Proteínas: La glucoproteína de la cubierta muestra variación antigénica; la enzima transcriptasa inversa contiene viriones en su interior; se necesita proteasa para la producción del virus infectante
Cubierta: Presente
Replicación: La transcriptasa inversa elabora una copia de DNA a partir del RNA genómico; el DNA del provirus es una plantilla para el RNA viral. La variabilidad genética es frecuente
Maduración: Las partículas son extruidas de la membrana plasmática
Características sobresalientes:
Los miembros no son oncógenos y pueden ser destructores de células
Infectan células del sistema inmunitario
Los provirus permanentemente quedan vinculados con las células
La expresión viral se limita a algunas células *in vivo*
Causa enfermedades crónicas de evolución lenta
La replicación suele ser específica de cada especie
El grupo incluye los agentes causales del SIDA

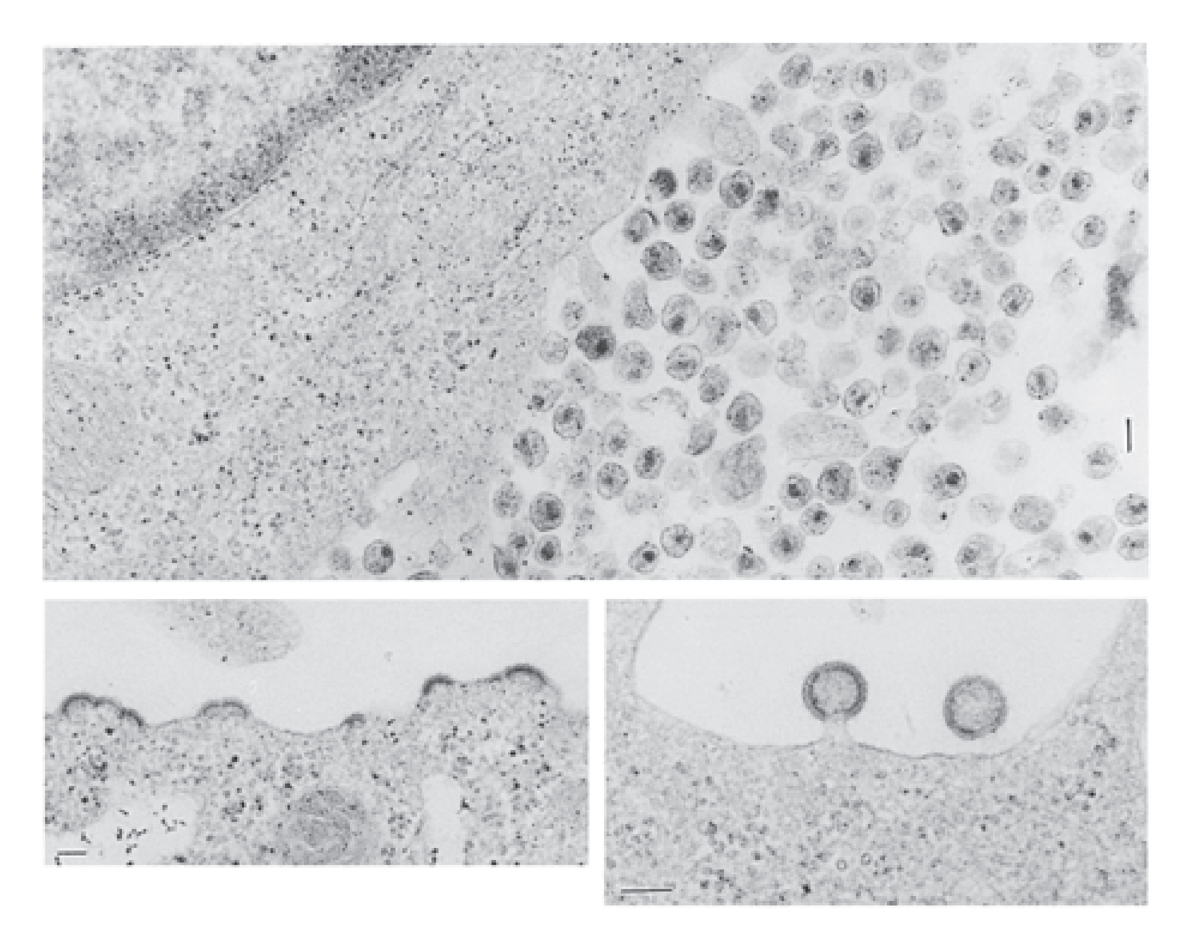


FIGURA 44-1 Micrografía electrónica de linfocitos infectados por VIH, en que se observa una gran acumulación de virus recién producidos, en la superficie celular (**imagen superior**, 46 450×, barra = 100 nm); virus recién formados eclosionan a través de la membrana citoplásmica (**esquina inferior izquierda**, 49 000×, barra = 100 nm); dos viriones a punto de desprenderse de la superficie celular (**esquina inferior derecha**, 75 140×, barra = 100 nm).

complejo de preintegración viral al interior del núcleo y también "detiene" las células en la fase G2 de su ciclo. La proteína Vpu estimula la degradación de linfocitos CD4.

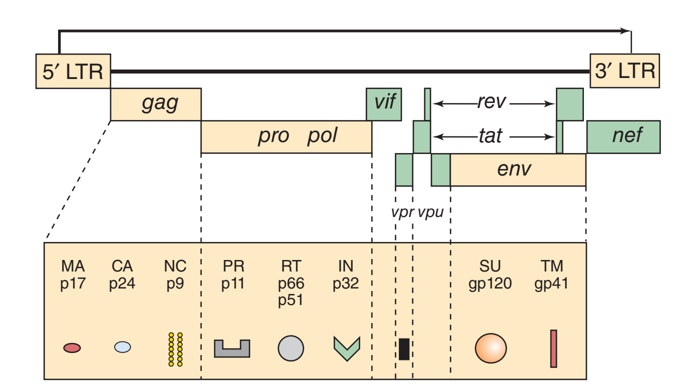
Las células contienen en su interior proteínas inhibidoras contra virus, conocidas como factores de restricción. Un tipo es APOBEC3G, una citidina desaminasa que inhibe la réplica del virus de inmunodeficiencia humana. La proteína Vif estimula la infectividad viral al suprimir los efectos de dicha enzima. Otra proteína inhibidora es TRIM5α, que se liga a las partículas retrovirales de entrada y las recluta hasta llevarlas a los proteasomas mucho antes de que aparezca la síntesis de DNA viral. Las diferentes variedades de VIH no son idénticas, pero al parecer incluyen toda una gran diversidad de virus similares (consúltese Clasificación). En un sujeto infectado se identifican poblaciones heterogéneas de genomas virales, heterogeneidad que refleja grandes índices de replicación de las partículas y una cifra grande de error de la transcriptasa inversa viral. Las regiones de máxima divergencia entre diferentes partículas virales se localizan en el gen *env* que codifica las proteínas de la cubierta viral (fig. 44-3). El producto (gp120) SU del gen recién mencionado contiene dominios de unión que se ocupan de la fijación del virus a la molécula CD4 y correceptores, intermedian los tropismos de linfocitos y macrófagos y transportan los determinantes antigénicos mayores que desencadenan la producción de anticuerpos neutralizantes. La glucoproteína de VIH posee cinco regiones variables (V) que muestran divergencia de una variante viral a la otra, y la región V3 es importante en la neutralización. El producto (gp41) TM de *env* contiene un dominio transmembranario que fija la glucoproteína en la cubierta viral y otro dominio de fusión que facilita la penetración del virus en las células que busca invadir. La divergencia en la cubierta de VIH complica los intentos de crear una vacuna eficaz contra el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

Los lentivirus son partículas totalmente exógenas; a diferencia de los retrovirus transformantes, el genoma lentiviral no contiene gen celular alguno conservado (cap. 43). Los individuos se infectan cuando se introduce el virus de fuentes exógenas.

Clasificación

Se han aislado lentivirus de innumerables especies (cuadro 44-2) que incluyen más de dos docenas de especies de primates africanos no humanos. Se conocen dos tipos diferentes de virus de SIDA humano: VIH-1 y VIH-2. Ambos se diferencian por características de la organización de su genoma, y las relaciones filogenéticas (evolutivas), con otros lentivirus de primates. La divergencia en secuencias entre los dos tipos de virus rebasa 50 por ciento.

Con base en las secuencias del gen *env*, VIH-1 abarca tres grupos virales diferentes (M, N y O); el grupo M predominante contiene como mínimo 10 subtipos o "clados" (A-J). También



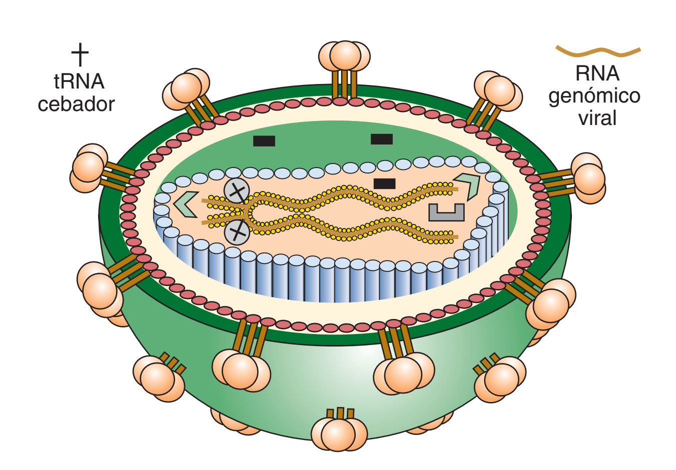
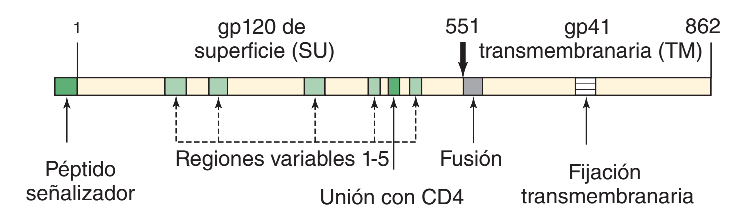


FIGURA 44-2 Genoma del VIH y estructura del virión. El genoma se muestra en la mitad superior. Las proteínas del virus son sintetizadas en la forma de poliproteínas precursoras (Gag-Pol [Pr160], Gag [Pr55], y Env [gp160]), que son modificadas enzimáticamente y así se generan las proteínas maduras del virión. La proteasa viral PR desdobla Gag-Pol y Gag para producir las proteínas de menor tamaño señaladas. Una PR celular desdobla Env y así produce gp120 SU y gp41 TM. El sitio que ocupan las proteínas del virión dentro de la partícula viral está indicado por símbolos (mitad inferior de la figura). Se desconocen las posiciones exactas que ocupan las proteínas PR, RT e IN en el centro del virus. El VIH-2 y VIS no tienen el gen *vpu* pero contienen el gen *vpx*. (Con autorización de Peterlin BM: Molecular biology of HIV. En *The Viruses*. Vol 4: *The Retroviridae*. Levy JA (editor). Plenum, 1995. Con autorización de Luciw PA, Shacklett BL. En: *HIV: Molecular Organization, Pathogenicity and Treatment*. Morrow WJW. Haigwood NL [editors]. Elsevier, 1993.)



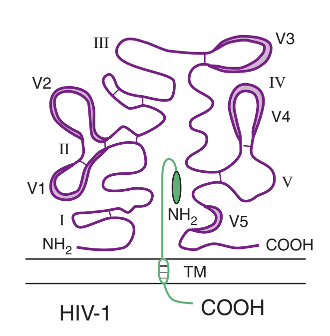


FIGURA 44-3 Proteínas de la cubierta de VIH-1. El polipéptido precursor de gp160 se señala en la mitad superior del esquema. La subunidad gp120 está fuera de la célula y la gp41 es una proteína transmembranaria. Los dominios hipervariables en gp120 han sido designados V1 hasta V5; se señalan las posiciones de los enlaces de disulfuro en la forma de líneas que conectan el interior de las asas. Regiones importantes de la subunidad gp41 son el dominio de fusión en la terminación amínica y en el dominio transmembranario (TM). Las terminaciones amínica (NH_2) y carboxílica (COOH), han sido marcadas en ambas subunidades. (Con autorización de Peterlin BM: Molecular biology of HIV. En: *The Viruses*. Vol 4: *The Retroviridae*. Levy JA (editor). Plenum, 1995. Con autorización de Myers G et al: *Human Retroviruses and AIDS 1993: A compilation and Analysis of Nucleic Acid and Amino Acid Sequences*. Theoretical Biology and Biophysics Group T-10, Los Alamos National Library, Los Alamos, New Mexico.)

se han identificado formas recombinantes de virus en la circulación de seres humanos en diferentes regiones geográficas. En forma similar, se han detectado cinco subtipos de VIH-2 (A-E). Se advierte enorme variabilidad dentro de cada subtipo. Los clados genéticos al parecer no corresponden con los grupos serotípicos de neutralización y no hay pruebas de que difieran las características biológicas o patogenia de los subtipos.

De especies de primates no humanos se han obtenido innumerables lentivirus; estas partículas pertenecen a seis grandes líneas filogenéticas (cuadro 44-2). Se considera que el VIS de los mangabeyes ahumados (un tipo de mono cercopitécido de África Occidental) y el VIH-2 son variantes del mismo virus, como lo son los lentivirus de chimpancés y VIH-1. Los VIS de monos verdes africanos, sykes, mandriles y colobus representan líneas adicionales independientes.

La organización de los genomas de los lentivirus de primates (humanos y simios) son muy similares. Una diferencia reside en que VIH-1 y el virus del chimpancé portan un gen *vpu*, en tanto que VIH-2 y el grupo VIS_{sm} tienen un gen *vpx*. Otros miembros de VIS no tienen genes *vpu* ni *vpx*. Las secuencias de los genes *gag* y *pol* se conservan celosamente. Se advierten diferencias notables en los genes de las glucoproteínas de la cubierta; las secuencias de la porción proteínica transmembranaria están más conservadas que las secuencias de glucoproteínas externas (el componente proteínico expuesto al exterior de la partícula viral).

Al parecer los virus de inmunodeficiencia simia no son patógenos para sus especies de origen (hospedadores como el chimpancé, el mono verde africano, el mangabey ahumado), de las que se sabe están infectadas en sus hábitat naturales. A diferencia de ello, los monos rhesus no están infectados en forma natural en las zonas silvestres en Asia, pero son susceptibles a la inducción de SIDA simia por diversos virus de inmunodeficiencia simia. El primer virus identificado de monos rhesus en cautiverio (VIS^{mac}) fue la cepa VIH-2 del mangabey ahumado.

Los lentivirus que no afectan primates originan infecciones persistentes en varias especies animales; causan enfermedades debilitantes crónicas y a veces inmunodeficiencia. El virus visna (llamado también maedi), que es el prototipo, causa síntomas neurológicos o neumonía en ovejas de Islandia. Otros virus originan anemia infecciosa en caballos, y artritis y encefalitis en cabras. Los lentivirus de felinos y bovinos pueden causar una inmunodeficiencia; los que no afectan primates tampoco infectan miembros de esa especie, incluidos seres humanos.

CUADRO 44-2 Miembros representativos del género *Lentivirus*

Origen de los virus	Virus	Enfermedades
Humanos	VIH-1 (VIS_{cpz})[a] VIH-2 (VIS_{sm})	AIDS (SIDA)
Primates no humanos[b]		
Chimpancé	VIS_{cpz}	AIDS (SIDA) de simios
Mangabey ahumado	VIS_{sm}	
Macacos[c]	VIS_{mac}	
Mono verde africano	VIS_{agm}	
Mono sykes	VIS_{syk}	
Mandril	VIS_{mnd}	
Mono L'Hoest[c]	VIS_{lhoest}	
Mono colobus	VIS_{col}	
No primates[d]		
Gato	Virus de inmunodeficiencia de felinos	AIDS (SIDA) de felinos
Vaca	Virus de inmunodeficiencia de bovinos	
Oveja	Visna/maedi	Enfermedad de pulmones y de sistema nervioso central
Caballo	Virus de la anemia infecciosa de equinos	Anemia
Cabra	Virus de la encefalitis y la artritis caprinas	Artritis y encefalitis

[a]VIH-1 y VIH-2 (VIH) fueron transmitidos de especies cruzadas de VIS_{cpz} y VIS_{sm}, respectivamente.

[b]La enfermedad no es causada en el hospedador original por VIS pero necesita transmisión a una especie diferente de mono (la especie más susceptible a la enfermedad es el rhesus). Los macacos asiáticos (rhesus) no muestran manifestaciones de infección por VIS en el estado salvaje; es probable que VIS_{sm} fuera introducido a los macacos en cautiverio.

[c]La indentación señala que el virus pertenece a la misma línea filogenética que el anterior.

[d]Los lentivirus que afectan a especies diferentes de primates causan enfermedad en la especie de origen.

Origen del SIDA

El VIH de seres humanos fue producto del cruzamiento de virus de simios en zonas rurales de África, a través de infecciones de especies, tal vez por contacto directo de personas con sangre infectada de primates. Los datos actuales señalan que los equivalentes de VIH-1 y VIH-2 de primates fueron transmitidos a personas en múltiples ocasiones distintas (siete, como mínimo). Los análisis de evolución de secuencias sitúan por 1930 la introducción de VIS_{cpz}, a las personas, lo cual dio origen al VIH-1 del grupo M, si bien algunas estimaciones indican que tal fecha fue anterior, hacia 1908. Es probable que las transmisiones en cuestión se produjeran repetidas veces a través de los decenios, pero a mediados del siglo anterior cambios sociales, económicos y conductuales particulares generaron circunstancias que permitieron la expansión, el establecimiento definitivo en seres humanos y el ataque de dichas infecciones por virus en proporciones epidémicas.

Desinfección e inactivación

El VIH queda totalmente inactivado ($\geq 10^5$ unidades de infectividad) al ser tratados durante 10 min a temperatura ambiental con cualquiera de las sustancias mencionadas: blanqueadores caseros al 10% (cloro); etanol al 50%; isopropanol al 35%; Nonidet P40 al 1%, Lysol al 0.5%; paraformaldehído al 0.5% o peróxido de hidrógeno al 0.3%. El virus también es inactivado en los extremos de pH (pH de 1.0; pH de 13.0). Si el virus está presente en sangre coagulada o sin coagular en una aguja o una jeringa, para inactivarlo se necesita exponerlo al blanqueador concentrado durante 30 s, como mínimo.

El virus no es inactivado por Tween 20 al 2.5%. El paraformaldehído lo inactiva si la partícula está libre en solución, pero no se sabe si la sustancia penetra los tejidos en grado suficiente para inactivar a todos los virus que estarían presentes en células de cultivo o muestras de tejido.

El VIH es inactivado fácilmente en líquidos o suero al 10% si se les calienta a 56°C durante 10 min, pero el material proteináceo seco lo protege en grado extraordinario. Sería necesario calentar a 68°C los hemoderivados liofilizados, durante 72 h, para tener la seguridad de que los virus contaminantes quedaron inactivados.

Sistemas de lentivirus de animales

Gracias a lo aprendido en infecciones experimentales, incluidas las de ovejas con virus visna (cuadro 44-2), se han acumulado datos de las características biológicas de las infecciones por lentivirus. De una especie a otra varían las características de la enfermedad natural, aunque se han identificado signos comunes en todas ellas.

1. Los virus son transmitidos por el intercambio de líquidos corporales.
2. Los virus persisten indefinidamente en los hospedadores infectados, aunque pueden estar en número pequeñísimo.
3. Los virus muestran grandes índices de mutación y surgirán mutantes diferentes en situaciones distintas (factores del hospedador, respuestas inmunitarias y tipos de tejido). Los hospedadores infectados contienen "cúmulos" de genomas virales muy similares conocidos como cuasiespecies.

4. La infección por virus evoluciona lentamente y pasa por etapas específicas. Las células de la línea de macrófagos interviene decisivamente en la infección. Los lentivirus difieren de otros retrovirus en que infectan células en diferenciación terminal que no se dividen. Sin embargo, tales células deben ser activadas para que se produzca la replicación y con ello los virus hijos. El virus depende de las células como monocitos y macrófagos, pero infecta solamente una célula de cada millón. Los monocitos transportan los virus en el organismo en una forma que no los reconoce el sistema inmunitario y así siembran otros tejidos. Las cepas de virus linfocitotrópicos tienden a ocasionar infecciones grandemente productivas, en tanto que la replicación de virus macrofagotrópicos es limitada.
5. Se necesita a veces el transcurso de años para que aparezca la enfermedad. Los hospedadores infectados por lo común elaboran anticuerpos, pero no eliminan la infección y de ese modo el virus persiste durante toda la vida. Surgen periódicamente en los hospedadores mencionados nuevas variantes antigénicas y muchas de las mutaciones se producen en las glucoproteínas de la cubierta. Pueden aparecer síntomas clínicos en cualquier momento a partir de los tres meses hasta varios años después de la infección. Las excepciones de periodos de incubación largos en el caso de enfermedades por lentivirus incluyen SIDA en niños, anemia infecciosa en caballos y encefalitis en cabras jóvenes.

Entre los factores del hospedador que son importantes en la patogenia de la enfermedad están la edad (los sujetos más jóvenes están expuestos al mayor peligro), estrés (puede desencadenar la enfermedad), mecanismos genéticos (algunas razas de animales son más susceptibles) e infecciones coexistentes (pueden exacerbar la enfermedad o facilitar la transmisión del virus).

Las enfermedades en los ungulados (caballos, ganado vacuno, ovejas y cabras) no son complicadas por infecciones secundarias por oportunistas. El virus de la anemia infecciosa equina se puede propagar entre caballos por intervención de los tábanos hematófagos y es el único lentivirus transmitido por un insecto vector.

Los lentivirus de simios comparten características moleculares y biológicas con VIH y causan una enfermedad similar a SIDA en macacos rhesus. El modelo del virus de inmunodeficiencia de simios es importante para conocer la patogenia de la enfermedad y crear una vacuna y estrategias terapéuticas.

Receptores de los virus

Todos los lentivirus de primates utilizan como receptor la molécula CD4, que se expresa en macrófagos y en linfocitos T. Para que el VIH-1 penetre en las células se necesita un segundo correceptor, además de CD4. Este segundo receptor se necesita para la fusión del virus con la membrana celular. El virus en primer lugar se fija a CD4 y después al correceptor, interacciones que ocasionan cambios en la conformación de la cubierta viral, con activación del péptido de fusión gp41 y activación de la fusión con la membrana. Los receptores de quimiocinas actúan como segundos receptores de VIH-1. (Las quimiocinas son factores solubles que tienen propiedades de quimioatracción y de citocinas.) El correceptor 5 de quimiocinas (CCR5, *chemokines correceptor 5*), que es el receptor de la quimiocina regulado en la activación, expresado y secretado por células T (RANTES, *regulated on activation, T-cell expressed and secreted*), y de las proteínas inflamatorias de macrófagos (MIP-1α y MIP-1β, *macrophage inflammatory protein*), constituye el correceptor predominante de las cepas macrofagotrópicas de VIH-1, en tanto que el receptor 4 quimiocínico del Coxsackie (CXCR4; *Coxsackie chemokine receptor 4*), el receptor de la quimiocina del factor-1 de muerte lenta (SDF-1, *slow death factor-1*), es el correceptor de las cepas linfocitotrópicas de VIH-1. Los receptores de quimiocina utilizados por VIH para penetrar en la célula se identifican en linfocitos, macrófagos y timocitos, así como en neuronas y células del colon y del cuello uterino. Las personas que tienen deleciones homocigóticas en CCR5 y producen formas mutantes de la proteína, pudieran estar protegidas contra la infección por VIH-1; las mutaciones en el promotor del gen CCR5 al parecer lentifican la evolución de la enfermedad. La necesidad de que participe un correceptor para la función de VIH con las células abrió nuevos puntos de acción de antivirales como estrategias terapéuticas y en 2003 en Estados Unidos se aprobó el primer inhibidor de la penetración de virus de inmunodeficiencia humana.

Otra molécula, la integrina α-4 β-7, al parecer actúa como receptor del virus de inmunodeficiencia humana. Parece que la lectina específica de células dendríticas (DC-SIGN) se liga a VIH-1, pero no media la penetración en las células, sino que más bien facilita el transporte de VIH por parte de células dendríticas a órganos linfoides y estimula la infección de los linfocitos T.

INFECCIONES POR VIH EN SERES HUMANOS

Patogenia y aspectos patológicos

A. Aspectos generales de la evolución de la infección por VIH

La evolución típica de la infección por VIH no tratada puede extenderse a lo largo de un decenio (fig. 44-4). Las etapas incluyen la infección primaria, la diseminación del virus a órganos linfoides, la fase de latencia clínica, la mayor expresión de VIH, la aparición de enfermedad clínica y la muerte. El lapso que media entre la infección primaria y la evolución hasta llegar a la enfermedad clínica es en promedio de 10 años. Los sujetos no tratados suelen morir en un plazo de dos años de haber comenzado los síntomas clínicos.

Después de la infección primaria hay un lapso de cuatro a 11 días entre la infección de la mucosa y la viremia inicial y se detecta a esta última durante ocho a 12 semanas. En este lapso se disemina ampliamente el virus en todo el organismo y queda sembrado en órganos linfoides. En muchos enfermos (50 a 75%), tres a seis semanas después de la infección primaria aparece un síndrome agudo similar a la mononucleosis. En esta fase temprana disminuye notablemente el número de linfocitos T CD4 circulantes. Una semana a tres meses después de la infección surge una respuesta inmunitaria al VIH, disminuye el número de virus en el plasma y aumentan los niveles de linfocitos CD4. Sin embargo, la respuesta inmunitaria no elimina del todo la infección y en los ganglios linfáticos persisten células infectadas por el virus de inmunodeficiencia humana.

El periodo mencionado de latencia clínica puede durar incluso 10 años, y en ese lapso se advierte muy intensa y constante replicación viral. Se calcula que se producen y destruyen cada día diez mil millones de partículas de virus de inmunodeficiencia humana. La semivida del virus en el plasma es de unas 6 h y el ciclo vital del virus (desde el momento de la infección de una célula hasta que surgen nuevos hijos, que infectan a las células siguientes),

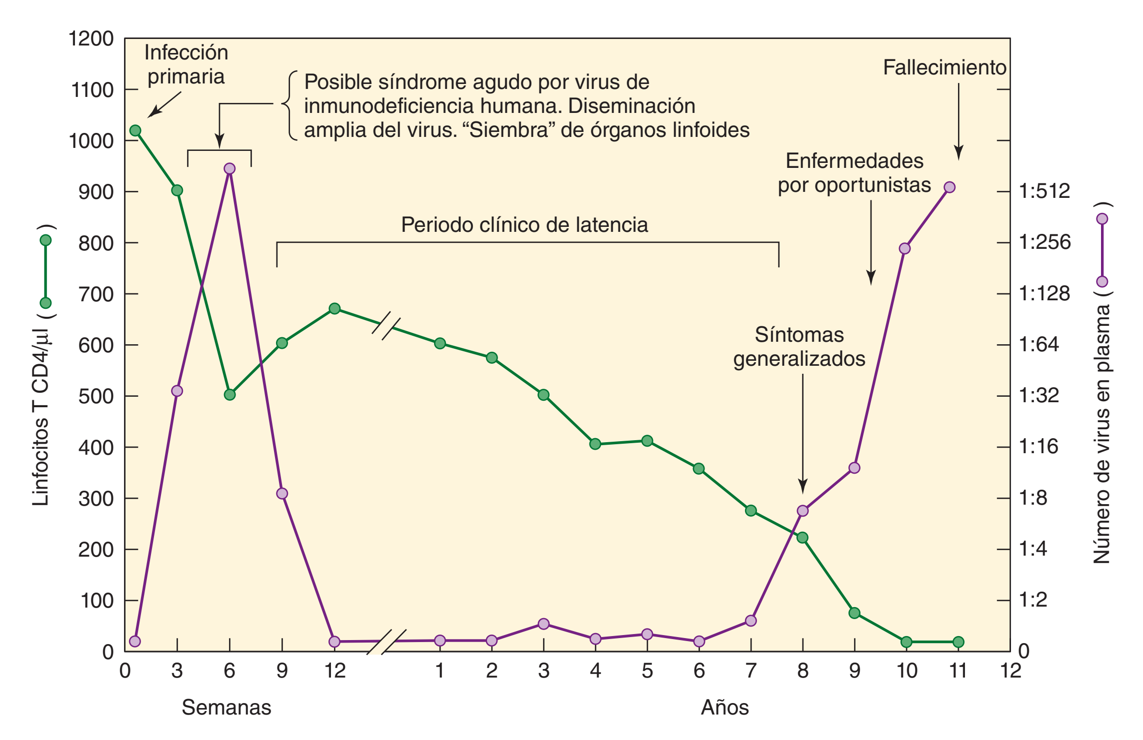


FIGURA 44-4 Evolución típica de una infección por VIH sin tratamiento. En el periodo temprano después de la infección primaria se observa diseminación extensa del virus y un decremento neto en el número de linfocitos T CD4 en sangre periférica. Se desencadena una respuesta inmunitaria al virus, con disminución de la viremia detectable, seguida de un periodo duradero de latencia clínica. Por medio de los métodos sensibles para detectar RNA del virus se advierte que tal partícula está presente en el plasma en todo momento. El número de linfocitos T CD4 sigue disminuyendo en los años siguientes hasta llegar a un nivel crítico, por debajo del cual surge el peligro notable de enfermedades por oportunistas. (Con autorización de Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS: New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. N Engl J Med 1993;328:327.)

es de 2.6 días, en promedio. Al parecer tienen velocidades grandes de renovación, los linfocitos T CD4, los principales elementos de los que dependería la producción de los virus. La semivida de los linfocitos mencionados, una vez infectados en forma productiva es de 1.6 días, aproximadamente. Ante la rápida proliferación de los virus y la cifra de error inherente de la transcriptasa inversa de VIH, se ha calculado que cada nucleótido del genoma VIH probablemente experimenta mutación todos los días.

Al final el enfermo terminará por mostrar síntomas generales y enfermedad clínicamente manifiesta, en la forma de infecciones por oportunistas o neoplasias. Es posible detectar fácilmente en el plasma números grandes de virus en las etapas avanzadas de la infección. El VIH de individuos en la etapa tardía por lo común es mucho más virulento y citopático que las cepas de virus que intervienen en los comienzos de la evolución. A menudo, la evolución hasta SIDA se acompaña en un cambio de las cepas monocitotrópica o macrofagotrópica (M-trópica) de VIH-1, a las linfocitotrópicas (T-trópicas).

B. Linfocitos T CD4, células anamnésicas y latencia

El signo cardinal de la infección por VIH es el agotamiento del número de los linfocitos cooperadores-inductores T, como consecuencia de la replicación de VIH en dicha población de células y también la muerte de linfocitos T no infectados, por mecanismos indirectos. Las células comentadas expresan el marcador fenotípico CD4 en su superficie y la molécula en cuestión constituye el principal receptor del virus; posee notable afinidad por la cubierta viral. El correceptor de VIH sobre los linfocitos es el receptor CXCR4 quimiocínico.

En los comienzos de la infección, VIH primarios aislados son macrofagotrópicos. Sin embargo, todas las cepas de VIH infectan linfocitos T CD4 primarios (pero no las líneas de dichas células inmortalizadas *in vitro*). Al evolucionar la infección los virus M-trópicos dominantes son sustituidos por los T-trópicos. La adaptación de tales partículas primarias en el laboratorio, en las líneas de linfocitos T inmortalizadas, hace que pierdan su capacidad de infectar monocitos y macrófagos.

Las consecuencias de la disfunción de los linfocitos T CD4 causada por la infección por VIH son devastadoras, porque los linfocitos mencionados intervienen de manera fundamental en la respuesta inmunitaria de humanos. Son los encargados de manera directa o indirecta de inducir un conjunto muy amplio de funciones de células linfoides y no linfoides; dichos efectos incluyen activación de macrófagos, inducción de funciones de linfocitos citolíticos naturales y células B, así como la secreción de diversos factores solubles que inducen la proliferación y la diferenciación de células linfoides que afectan las células hematopoyéticas.

En cualquier momento particular sólo una pequeña fracción de linfocitos T CD4 es infectada en forma productiva y muchas de las células con dicho ataque son destruidas, pero sobrevive una fracción y recupera su estado anamnésico en reposo. En las células anamnésicas es pequeña o nula la expresión del gen viral y de este modo permite que sea un reservorio latente, estable, a largo plazo del virus. Menos de una célula por millón de linfocitos T CD4 en reposo alberga provirus latentes de VIH-1, si la persona recibe satisfactoriamente antirretrovirales. Incluso después de 10 años de tratamiento los enfermos presentan cambio mínimo en la magnitud en reservorio con número de VIH latentes, porque con gran lentitud se deteriora el reservorio latente de las células anamnésicas infectadas. Es poco probable la cura de la infección por VIH; si existiera un millón de células anamnésicas infectadas en el cuerpo se necesitarían unos 70 años para que se

deterioraran y murieran. Cuando las células mencionadas se exponen al antígeno o se interrumpe la farmacoterapia, se activa y libera el virus infectante. Es posible que existan también entre los macrófagos, los hemoblastos o las células cerebrales otros reservorios o depósitos no sensibles a fármacos.

C. Monocitos y macrófagos

Los dos tipos de células intervienen decisivamente en la diseminación y la patogenia de la infección por virus de inmunodeficiencia humana. Algunos subgrupos de monocitos expresan el antígeno de superficie CD4, y por ello se fijan en la cubierta del virus. El correceptor de dicho virus en los monocitos y macrófagos es la quimiocina CCR5. En el cerebro, los principales tipos celulares infectados por VIH al parecer son los monocitos y los macrófagos, y ello pudiera tener consecuencias importantes para la aparición de manifestaciones neuropsiquiátricas que acompañan a la infección por virus de inmunodeficiencia humana. Los macrófagos infectados de alvéolos pulmonares pudieran intervenir en la neumonitis intersticial en algunos enfermos de síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

En fecha temprana después de la infección predominan las cepas macrofagotrópicas de VIH y ellas son las que originan las infecciones iniciales incluso si la fuente de transmisión contiene virus M-trópicos y T-trópicos.

Se ha pensado que los monocitos y los macrófagos constituyen reservorios importantes de VIH en el cuerpo. A diferencia del linfocito T CD4, el monocito es relativamente refractario a los efectos citopáticos de VIH y por ello el virus, además de sobrevivir en el interior de la célula, puede ser transportado por ella a diversos órganos como los pulmones y el cerebro. Los macrófagos infectados pueden seguir produciendo virus por largo tiempo.

D. Órganos linfoides

Los órganos linfoides intervienen decisivamente en la infección por virus de inmunodeficiencia en humanos. Los linfocitos en la sangre periférica constituyen sólo alrededor de 2% del conjunto total de ellos y el resto está más bien en órganos linfoides; precisamente en estos últimos se generan las respuestas inmunitarias específicas. La red de células dendríticas foliculares en los centros germinales de los ganglios linfáticos atrapa antígeno y estimula la aparición de una respuesta inmunitaria. Durante toda la evolución de la infección no tratada (incluso durante la fase de latencia clínica), hay replicación activa de VIH en los tejidos linfoides. El microambiente del ganglio linfático es óptimo para que se establezca y propague la infección por el virus. Hay liberación de citocinas que activan un gran fondo común de linfocitos T CD4 que son muy susceptibles a la infección por virus de inmunodeficiencia humana. Al evolucionar la enfermedad y llegar a etapas ulteriores se altera la arquitectura de los ganglios mencionados.

E. Células del sistema nervioso

Las anormalidades del sistema nervioso son frecuentes en etapas ulteriores de la infección y constituyen un cuadro definitorio del síndrome de inmunodeficiencia adquirida. La enfermedad de dicho sistema aparece en grados variables en 40 a 90% de los pacientes; los cuadros comprenden encefalopatía por VIH, neuropatías periféricas y como problema más grave, el complejo de demencia por síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Mecanismos patógenos directos e indirectos podrían explicar las manifestaciones neuropsiquiátricas de la infección por virus de inmunodeficiencia humana. Los tipos predominantes de células en el cerebro que son infectadas por el VIH son los monocitos y los macrófagos. El virus puede penetrar en el parénquima cerebral, valiéndose de monocitos infectados que liberan citocinas, que son tóxicas para las neuronas, así como factores quimiotácticos. Lo anterior desencadena infiltración al encéfalo de células inflamatorias. Rara vez aparece VIH en las neuronas, los oligodendrocitos y los astrocitos (si es que lo hace).

F. Coinfecciones virales

Se necesitan señales de activación para que se establezca una infección por VIH productiva y en la persona infectada por dicho virus al parecer actúan como activadores celulares muy diversos estímulos antigénicos *in vivo*. Por ejemplo, la infección activa por *Mycobacterium tuberculosis* incrementa sustancialmente la viremia plasmática. Los efectos lesivos del VIH en el sistema inmunitario hacen que los enfermos queden vulnerables a muchos tipos de infecciones. La Organización Mundial de la Salud señala que la infección por VIH aumenta incluso 20 veces el peligro de contraer tuberculosis. De los 9 millones de nuevos casos de tuberculosis a nivel mundial en 2007, se calcula que 15% aparecieron en personas infectadas por virus de inmunodeficiencia humana.

Otras infecciones virales concomitantes, como serían las causadas por los virus de Epstein-Barr, citomegálico, del herpes simple o de hepatitis B pueden actuar como cofactores del síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Una causa importante de morbilidad y mortalidad en personas infectadas por VIH es la infección coexistente con virus de hepatitis C que aparece en 15 a 30% de los enfermos de VIH en Estados Unidos y que suele ocasionar una hepatopatía. Se observa una elevada prevalencia de infección por virus citomegálico en sujetos VIH-positivos.

Se observan también infecciones coexistentes con dos cepas diferentes de virus de inmunodeficiencia humana. Se han publicado casos probados de sobreinfección por una segunda cepa en una persona infectada por VIH, incluso en caso de haber una potente respuesta de linfocitos T CD8 contra la primera cepa. Se considera que la sobreinfección por VIH es un hecho raro.

Manifestaciones clínicas

Los síntomas y signos de la infección aguda por VIH son inespecíficos e incluyen fatiga, erupciones, cefalea, náusea y sudoración nocturna. El SIDA se caracteriza por depresión notable del sistema inmunitario y la aparición de muy diversas infecciones graves por oportunistas o neoplasias poco comunes (en particular el sarcoma de Kaposi). Las manifestaciones más graves en adultos suelen ser antecedidas de un pródromo ("diarrea y deterioro") que incluye fatiga, malestar general, adelgazamiento, falta de aire, diarrea crónica, zonas blancas en la lengua (tricoleucoplasia y candidosis oral) y linfadenopatía. Una causa importante de debilidad son las manifestaciones patológicas en las vías gastrointestinales, desde el esófago hasta el colon. Sin tratamiento, el intervalo entre la infección primaria por VIH y las primeras manifestaciones de la enfermedad clínica suele ser largo en los adultos y es de ocho a 10 años. El sujeto fallece unos 10 años después.

A. Cantidad de virus en plasma

El número de partículas de VIH en la sangre (cantidad de virus o viremia) tiene notable valor pronóstico. En cada paciente continuamente hay ciclos de replicación viral y destrucción celular y el nivel de los virus en la sangre (en equilibrio dinámico) (punto

prefijado) varía de una persona a otra durante el periodo asintomático. Dicho nivel refleja el número total de células infectadas en forma productiva y su tamaño promedio en el momento de la descarga o eclosión. Como consecuencia, una sola medición del número de virus en plasma unos seis meses después de la infección permite anticipar el riesgo ulterior de que surja SIDA en los varones años después (fig. 44-5). Los puntos prefijados altos tienden a guardar relación con la evolución rápida de la enfermedad y con respuestas más inadecuadas al tratamiento. Sin embargo, datos más recientes sugieren una diferencia en dicho parámetro entre uno y otro sexos; en las mujeres el número de virus posiblemente no permita predecir con exactitud la evolución hasta llegar al síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Es posible cuantificar los niveles de RNA plasmáticos de VIH por medio de diversos métodos comerciales. La cantidad de virus en plasma al parecer constituye el elemento que mejor permite anticipar la culminación clínica a largo plazo, en tanto que el número de linfocitos CD4 constituye el mejor elemento de anticipación del peligro a breve plazo de que aparezca una enfermedad por oportunistas. Las cuantificaciones del número de virus plasmáticos constituyen un elemento decisivo para evaluar la eficacia de los antirretrovirales.

B. SIDA en niños

Las respuestas de neonatos infectados son distintas de las que se observan en adultos infectados por virus de inmunodeficiencia humana. El comienzo del SIDA en niños (enfermedad adquirida de su madre infectada) suele incluir síntomas clínicos a los dos años de vida; dos años más tarde el pequeño muere. El neonato es particularmente susceptible a los efectos devastadores de VIH porque para la fecha de la infección primaria no se ha desarrollado su sistema inmunitario. Las manifestaciones clínicas pueden incluir neumonitis intersticial linfoide, neumonía, candidosis grave de la boca, encefalopatía, consunción, linfadenopatía generalizada, sepsis bacteriana, hepatoesplenomegalia, diarrea y retraso del crecimiento.

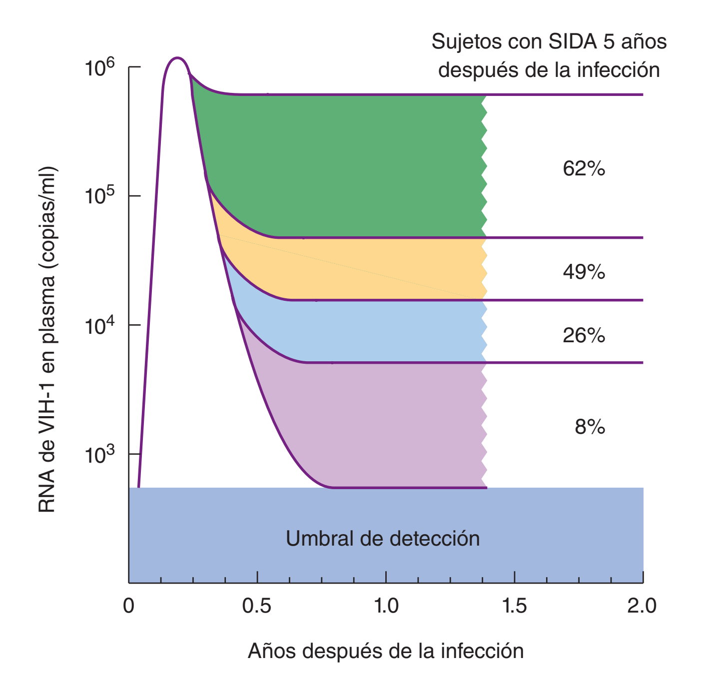


FIGURA 44-5 Utilidad de los niveles de RNA del VIH-1 plasmático en el pronóstico (carga o número de virus). El límite prefijado en cuanto al virus anticipa los resultados clínicos a largo plazo. (Con autorización de Ho DD: Viral counts count in HIV infection. Science 1996;272:1124.)

Los niños con infección por VIH-1 adquirida en fase perinatal (*sin tratamiento*), tienen un pronóstico totalmente insatisfactorio. En los primeros años de vida se advierte muy a menudo una evolución acelerada de la enfermedad. Los niveles grandes de la cantidad de VIH-1 en plasma al parecer señalan anticipadamente a los lactantes en peligro de que su enfermedad evolucione con rapidez. Las características de la replicación viral en los lactantes difieren de la de los adultos. Los niveles de la carga de RNA viral por lo común son pequeños en el nacimiento, lo cual sugiere que el contagio de la infección se produjo en una fecha muy cercana a ese momento. Los niveles de RNA a partir de esa fecha aumentan rápidamente en los primeros meses de vida y después hay una disminución lenta hasta los 24 meses de edad, lo cual sugiere que el sistema inmunitario inmaduro difícilmente frenó la infección. Un porcentaje pequeño de lactantes (5% o menos) presentan infecciones transitorias por VIH, lo cual sugiere que algunos de ellos pueden eliminar el virus.

C. Enfermedad del sistema nervioso

La disfunción del sistema nervioso aparece a menudo en personas infectadas por virus de inmunodeficiencia humana. Se sabe que 40 a 90% de los pacientes muestran síntomas neurológicos y en muchos casos en la necropsia se identifican anormalidades neuropatológicas.

Entre los síndromes neurológicos netos que aparecen a menudo están encefalitis subaguda, mielopatía vacuolar, meningitis aséptica y neuropatía periférica. En 25 a 65% de los enfermos de SIDA, como manifestación tardía surge el complejo de demencia por SIDA, que es el síndrome neurológico más común y se caracteriza por deficiencias de la memoria, incapacidad de concentración, apatía, retraso psicomotor y cambios conductuales. Otras enfermedades del sistema nervioso que surgen junto con la infección por VIH comprenden toxoplasmosis, criptococosis, linfoma primario del sistema nervioso central y leucoencefalopatía multifocal progresiva inducida por el virus JC. La media de supervivencia desde que comienza la demencia grave suele ser menor de seis meses.

Los niños enfermos de SIDA también presentan anormalidades del sistema nervioso que incluyen cuadros convulsivos, pérdida progresiva de los puntos definitorios conductuales y del desarrollo; encefalopatía, trastornos de déficit de atención y retrasos del desarrollo. La encefalopatía por VIH puede afectar incluso al 12% de los niños, y suele acompañarse de profunda deficiencia inmunitaria. Los patógenos bacterianos predominan en el SIDA de niños como la causa más frecuente de meningitis.

Gracias a la terapia con antirretrovirus los niños que nacen con infección por VIH viven hasta la adolescencia y muchos al parecer están expuestos a un gran peligro de presentar trastornos psiquiátricas y los problemas más comunes son los trastornos de ansiedad.

D. Infecciones por oportunistas

Las causas predominantes de morbilidad y de mortalidad en personas en fase tardía de la infección por VIH son las infecciones por oportunistas, es decir, cuadros graves inducidos por agentes que rara vez causan una enfermedad importante en la persona inmunocompetente. Las infecciones antes mencionadas por lo común no aparecen en sujetos infectados por VIH hasta que el

número de linfocitos T CD4 ha disminuido del nivel normal de 1 000 células/μl, a menos de 200 células. Conforme se han creado tratamientos contra algunos de los patógenos oportunistas más comunes y la atención de los enfermos de SIDA permite que sobrevivan mayor tiempo, ha cambiado el espectro de infecciones por oportunistas.

La infecciones más comunes por oportunistas en enfermos de SIDA no tratados incluyen las causadas por:

1. Protozoos: especies de *Toxoplasma gondii, Isospora belli, Cryptosporidium.*
2. Hongos: *Candida albicans, Cryptococcus neoformans, Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum, Pneumocystis jiroveci.*
3. Bacterias: especies de *Mycobacterium avium-intracellulare, M. tuberculosis, Listeria monocytogenes, Nocardia asteroides, Salmonella* y *Streptococcus.*
4. Virus: citomegálico, del herpes simple, de varicela-zoster, adenovirus, de poliomavirus JC, de hepatitis B y C.

Las infecciones por herpesvirus son frecuentes en enfermos de SIDA y a menudo se detectan en la saliva múltiples partículas de ese tipo. La retinitis por virus citomegálico es la complicación ocular más común y grave del síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

E. Cáncer

Las personas con SIDA tienen una enorme predisposición a la aparición de cánceres que es otra consecuencia de la depresión inmunitaria. Los cánceres en dicha situación corresponden a los causados por un virus como cofactor e incluyen el linfoma no-Hodgkin (de los tipos sistémico y del sistema nervioso central), el sarcoma de Kaposi, el cáncer cervicouterino y los de la zona anogenital. En la mayor parte de los cánceres de células B clasificados como linfoma de Burkitt y los del sistema nervioso central (pero no en muchos de los linfomas sistémicos) se identifica DNA viral de Epstein-Barr. En algunos de los linfomas no-Hodgkin se ha detectado el virus de polioma SV40. La frecuencia del linfoma de Burkitt es 1 000 veces mayor en enfermos de SIDA que en la población general.

El sarcoma de Kaposi es un tumor vascular que, en opinión de los expertos, proviene del endotelio y aparece en la piel, las mucosas, los ganglios linfáticos y algunas vísceras. Antes de que se observara dicho cáncer en los enfermos de SIDA se consideraba que era muy raro. El sarcoma mencionado tiene una frecuencia 20 000 veces mayor en enfermos de SIDA no tratado que en la población general. Al parecer hay una relación causal de la neoplasia con el herpesvirus vinculado con el sarcoma en cuestión o HHV8 (cap. 33). El cáncer cervicouterino es causado por virus de papiloma de alto riesgo; los de la zona anogenital también surgen como consecuencia de infecciones coexistentes con virus de papiloma humano (cap. 43).

El uso de antirretrovirales eficaces ha logrado la disminución notable en la frecuencia de sarcomas de Kaposi, aunque no ha modificado la incidencia de los linfomas no-Hodgkin en personas infectadas por virus de inmunodeficiencia en humanos.

Dado que los sujetos infectados por el virus viven más tiempo por acción de los antirretrovirales eficaces, terminan por mostrar cánceres de muy diverso tipo con una frecuencia mayor que la población no infectada; tales neoplasias que surgen junto con VIH incluyen los cánceres de la cabeza y el cuello, el pulmón, el linfoma de Hodgkin, el cáncer de hígado, el melanoma y el de la boca. Al parecer no aumenta el riesgo de cánceres de la mama, el colon o la próstata.

Inmunidad

Las personas infectadas por VIH generan respuestas mediadas por células y de tipo humoral contra los antígenos propios del virus. Poco después de la infección aparecen los anticuerpos contra diversos antígenos frecuentes en esas partículas (cuadro 44-3).

Innumerables individuos infectados sintetizan anticuerpos neutralizantes contra VIH, dirigidos contra la glucoproteína de la cubierta. Sin embargo, son pequeños los niveles de su actividad neutralizante y muchos de los anticuerpos contra la cubierta no poseen tal acción. Se piensa que la glucosilación densa puede inhibir la unión del anticuerpo neutralizante a la proteína de la cubierta; la glucoproteína de la cubierta muestra enorme variabilidad en sus secuencias, y dicha variación natural permite la evolución de poblaciones sucesivas de virus resistentes que no son reconocidos por los anticuerpos neutralizantes existentes.

Los anticuerpos neutralizantes se miden *in vitro* al inhibir la infección del VIH, de las líneas de linfocitos susceptibles. La infección por los virus se cuantifica por medio de: 1) la técnica de transcriptasa inversa que mide la actividad enzimática de las partículas VIH liberadas; 2) el método de inmunofluorescencia indirecta, que mide el porcentaje de células infectadas, y 3) la reacción en cadena de polimerasa-transcriptasa inversa (RT-PCR, *reverse transcriptase polymerase chain reaction*) o técnicas de amplificación del DNA de cadena ramificada (bDNA), que miden los ácidos nucleicos del virus de inmunodeficiencia humana.

Surgen respuestas de tipo celular dirigidas contra las proteínas de virus de inmunodeficiencia humana. Los linfocitos D citotóxicos (CTL, *cytotoxic T lymphocytes*) reconocen los productos de los genes *env, pol, gag*, y *nef* y dicha reactividad es mediada por linfocitos CD3-CD8 con restricción de complejo de histocompatibilidad mayor. La reactividad específica hacia

CUADRO 44-3 Principales productos génicos de VIH útiles en el diagnóstico de la infección

Producto génico[a]	Descripción
gp160[b]	Precursor de las glucoproteínas de cubierta
gp120[b]	Glucoproteína de cubierta externa del virión, SU[c]
p66	Transcriptasa inversa y RNasa H del producto génico de la polimerasa
p55	Precursor de proteínas centrales; poliproteína proveniente del gen *gag*
p51	Transcriptasa inversa, RT
gp41[b]	Glucoproteína de la cubierta transmembranaria, TM
p32	Integrasa, IN
p24[b]	Proteína central de nucleocápside del virión, CA
p17	Proteína del centro-matriz del virión, MA

[a]El número denota la masa molecular aproximada de la proteína en kilodaltones.
[b]Los anticuerpos a dichas proteínas virales son los detectados más frecuentemente.
[c]Abreviatura de dos letras que corresponde a la proteína viral.

env aparece en casi todas las personas infectadas y disminuye al evolucionar la enfermedad. También se ha detectado actividad de linfocitos citolíticos naturales (NK, *natural killer*) contra gp120 de VIH-1.

No se ha dilucidado cuáles respuestas del hospedador son importantes para proteger contra la infección por VIH o el desarrollo de la enfermedad. Un problema que afrontan quienes investigan la posibilidad de una vacuna contra SIDA es que se desconocen los hechos correlacionados de la inmunidad protectora, que incluyen la importancia relativa de las respuestas inmunitarias humorales o las mediadas por células.

Diagnóstico por laboratorio

La infección por VIH se detecta por tres métodos: 1) aislamiento del virus; 2) cuantificación serológica de anticuerpos contra el virus, y 3) medición del ácido nucleico o los antígenos del virus.

A. Aislamiento del virus

El VIH se cultiva de los linfocitos de la sangre periférica (y a veces de muestras de otros sitios). El número de linfocitos infectados circulantes varía con la etapa de la enfermedad (fig. 44-4). En el plasma y en las células sanguíneas periféricas de enfermos de SIDA se identifican grandes números de virus, en comparación con lo observado con personas asintomáticas. La magnitud de la viremia al parecer constituye una correlación mejor de la etapa clínica de la infección que la misma presencia de anticuerpos (fig. 44-6). La técnica de aislamiento más sensible es cultivar conjuntamente la muestra problema con mononucleares de sangre periférica, estimulados por un mitógeno y no infectados. Las partículas de VIH primaria tienen una proliferación muy lenta en comparación con las cepas adaptadas en el laboratorio. La proliferación de los virus se detecta al estudiar los líquidos sobrenadantes del cultivo después de siete a 14 días, para que surja la actividad de transcriptasa inversa o los antígenos específicos del virus (p24).

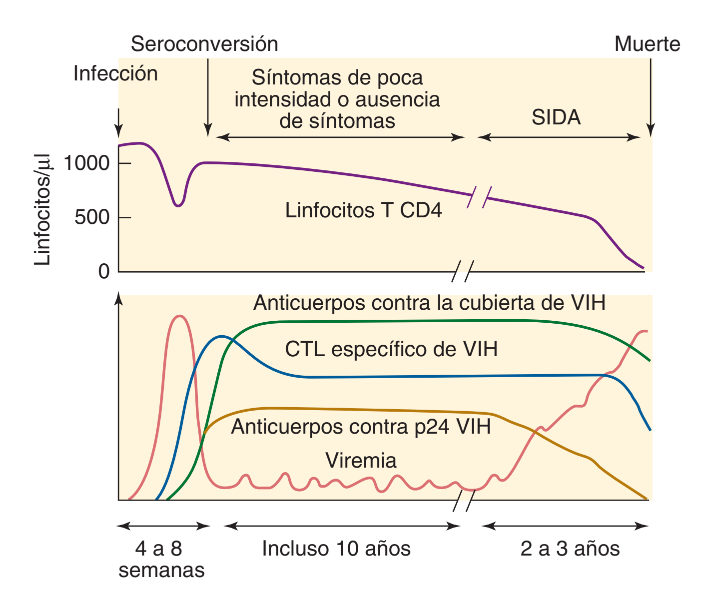


FIGURA 44-6 Características de las respuestas de anticuerpos contra VIH, y su relación con la evolución de la infección por virus de inmunodeficiencia humana. (PBL, linfocitos en sangre periférica; CTL, linfocitos T citotóxicos.) (Con autorización de Weiss RA: How does HIV cause AIDS? Science 1993;260:1273.)

La gran mayoría de sujetos con anticuerpos contra VIH-1 (positividad) tendrán el virus, que se puede cultivar de sus células sanguíneas. Sin embargo, las técnicas de aislamiento son lentas y laboriosas y se circunscriben a estudios de investigación. Las técnicas de amplificación por PCR se utilizan más a menudo para identificar el virus en muestras clínicas.

B. Serología

En el comercio se consiguen equipos de prueba para medir anticuerpos, con la técnica de enzimoinmunoanálisis (EIA, *enzyme-linked immunoassay*). Los métodos en cuestión, si se practican de manera apropiada, poseen sensibilidad y especificidad mayores del 98%. Cuando se usan los métodos basados en EIA para el cribado de poblaciones con una pequeña prevalencia de infecciones por VIH (como los donadores de sangre), al surgir una prueba positiva en una muestra de suero habrá que repetirla para mayor confirmación. Si la nueva prueba EIA es reactiva, se realizará una prueba confirmatoria para descartar resultados positivos falsos. La técnica más usada para la confirmación es la inmunotransferencia en que se detectan proteínas de pesos moleculares específicos, propias de virus de inmunodeficiencia humana. Más a menudo se identifican anticuerpos contra la proteína p24 del centro de la partícula o las glucoproteínas gp41, gp120 o gp160 de la cubierta.

El perfil de respuestas contra antígenos específicos del virus cambia con el transcurso del tiempo y la evolución clínica hasta llegar al síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Se conserva el nivel de anticuerpos contra las glucoproteínas de la cubierta (gp41, gp120, gp160), pero disminuyen las dirigidas contra las proteínas Gag (p17, p24, p55). La disminución del nivel del anticuerpo contra p24 puede ser el signo que anticipe el comienzo de los signos clínicos y otros marcadores inmunitarios de la evolución (fig. 44-6).

En laboratorios que no cuentan con los medios para practicar EIA y en situaciones en que es imposible esperar los resultados de pruebas, se recurre a métodos sencillos y rápidos para detectar anticuerpos contra virus de inmunodeficiencia humana. Tales métodos se realizan en sangre o líquidos de la boca y se basan en principios como las reacciones de aglutinación de partículas o inmunomanchas. Son métodos rápidos que detectan anticuerpos contra VIH en muestras de sangre completa en las que no se necesita preparación. Se pueden realizar fuera de los laboratorios corrientes.

Se cuenta también con equipo para estudios en el hogar. La técnica comprende la colocación de gotas de sangre después de un pinchazo de la yema de un dedo en una tarjeta tratada especialmente; esta última es enviada a un laboratorio autorizado, para practicar las pruebas.

La mediana de lapso hasta la seroconversión después de infección por VIH es de tres a cuatro semanas. Casi todas las personas mostrarán anticuerpos detectables en un plazo de seis a 12 semanas después de la infección y prácticamente todos los sujetos presentarán positividad en términos de seis meses. Muy pocas veces la infección por VIH dura más de seis meses sin que surja una respuesta detectable de anticuerpos.

C. Detección de ácidos nucleicos o antígenos del virus

Para detectar RNA viral en muestras de seres humanos a menudo se utilizan técnicas de amplificación como RT-PCR, PCR

de DNA y bDNA. El método de RT-PCR utiliza enzimas para amplificar el RNA del VIH; la técnica de bDNA amplifica RNA del virus por métodos de hibridación seriada de oligonucleótidos. Las técnicas son cuantitativas y se utilizan estándares de referencia; con cada una es necesario incluir testigos positivos y negativos apropiados. Los métodos de índole molecular mencionados son muy sensibles y constituyen la base para las cuantificaciones del número de virus en plasma. La heterogeneidad de las secuencias de VIH puede menoscabar la sensibilidad de estas técnicas para detectar infecciones por virus de inmunodeficiencia humana. Marcadores de predicción importantes son los niveles de RNA del VIH, que señalan la evolución de la enfermedad y constituyen medios útiles para vigilar la eficacia de las terapias antivirales.

El diagnóstico temprano de infección por VIH en hijos de madres infectadas se practica por medio de técnicas de detección del RNA del VIH-1 plasmático. La presencia de anticuerpos de la madre hace que no sean útiles los estudios serológicos.

Poco después de la infección se detectan por medio de EIA en plasma, niveles pequeños del antígeno p24 del VIH-1 circulante. El antígeno a menudo no se detecta después de que aparecen los anticuerpos (porque la proteína p24 forma complejos con los anticuerpos contra ella), pero a veces reaparece en etapa tardía de la infección y tal signo conlleva mal pronóstico.

Epidemiología

A. Propagación mundial del SIDA

El SIDA fue identificado por primera vez en 1981 en Estados Unidos como una nueva entidad patológica en varones homosexuales. Veinte años después ha terminado por ser una epidemia mundial que aún no cesa. El Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA) estimó que para finales de 2007 33 millones de personas a nivel mundial vivían con VIH/SIDA y la mayor parte había sido infectada por contactos heterosexuales (fig. 44-7). Se calcula que en ese año fallecieron de SIDA 2.0 millones de personas y que se produjeron 2.7 millones de infecciones nuevas por VIH, incluidos 370 000 niños, de los cuales muchos eran productos infectados en fase perinatal. En el año de 2005 la Organización Mundial de la Salud estimó que hasta esa fecha habían fallecido más de 25 millones de personas a nivel mundial por SIDA y que quedaron en la orfandad más de 15 millones de niños, y de ellos 12 millones vivían en países subsaharianos de África.

La epidemia varía con la región geográfica. Con base en los datos de 2007, el mayor número de infecciones por VIH se registró en los países subsaharianos de África (fig. 44-7). En algunas ciudades africanas con elevada prevalencia, se sabe que uno de cada tres adultos estaba infectado por el virus. En esa zona la epidemia al parecer se ha estabilizado, si bien a menudo en grandes niveles. En algunos de esos países se han introducido antirretrovirales. Las infecciones se han propagado también en el sur y el sureste asiático (en particular en India, China y Rusia). El SIDA tiende a afectar adultos jóvenes y trabajadores en su periodo de mayor productividad, razón por la cual la epidemia ha tenido efectos devastadores en las estructuras sociales y económicas de algunos países.

A nivel mundial los virus del grupo M son los que han ocasionado muchas de las infecciones por VIH-1, pero varían las distribuciones de subtipos. El subtipo C predomina en el sur de África; el subtipo A en África Occidental y el subtipo B aparece predominantemente en Estados Unidos, Europa y Australia. El VIH-2 ha permanecido localizado más bien en África Occidental.

La Organización Mundial de la Salud estima que cada año se producen 2.7 millones de nuevas infecciones por VIH y de ellas 90% surgen en países en desarrollo. En estos últimos, el SIDA es una enfermedad transmitida abrumadoramente por contactos heterosexuales y se observa una cifra igual de ataque entre varones y mujeres.

Se ha planteado la hipótesis de que la diseminación rápida a nivel global de VIH en los últimos decenios del siglo XX ha

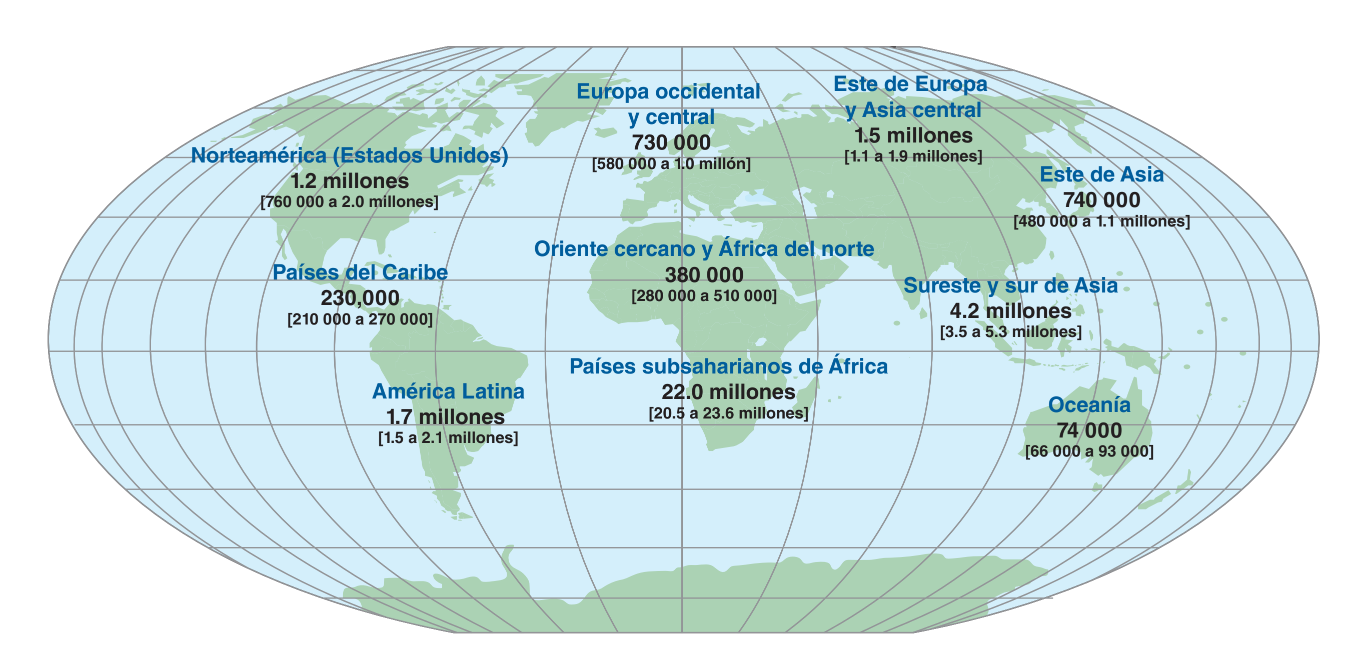


FIGURA 44-7 Estimación de adultos y niños que vivían con VIH/SIDA, por continentes o regiones, en diciembre de 2007. Se ha calculado que a nivel mundial en ese año fallecieron 2.0 millones de personas por VIH/síndrome de inmunodeficiencia adquirida. (Datos obtenidos del Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre VIH/SIDA.)

sido estimulada por la migración masiva de pobladores de zonas rurales, a centros urbanos, junto con el desplazamiento internacional de personas infectadas como consecuencia de revueltas civiles, turismo y viajes de negocios.

B. Estados Unidos

El panorama de la epidemia de SIDA ha cambiado en Estados Unidos desde 1981. Originalmente la mayor parte de los casos se observaba en varones homosexuales. Después se identificó que el trastorno surgía en usuarios de drogas inyectables. Para 2005 había ataque desproporcionado de algunas comunidades de minorías raciales y étnicas, en las cuales se concentraban 66% de los casos de VIH/SIDA notificados. La frecuencia de la transmisión por contactos heterosexuales fue en aumento y 25% en promedio de los casos recién diagnosticados correspondieron a mujeres. Muchos de los casos de SIDA producto del contacto heterosexual se atribuyeron a las relaciones sexuales con un usuario de drogas inyectables o un compañero infectado por virus de inmunodeficiencia humana. A pesar de las recomendaciones que los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades publicaron en 2006 para que el cribado del virus fuera parte sistemática de la atención médica de personas de 13 a 64 años, se ha calculado que 25% de sujetos que viven con VIH no saben que tienen la infección.

A finales de 2007 se calculó que había más de 1.5 millones de casos de VIH/SIDA (y de ellos más de 500 000 ya habían fallecido). Más de un millón de personas viven con VIH/SIDA en Estados Unidos y se ha calculado que cada año aparecen 40 000 casos nuevos. El índice de defunción disminuyó por primera vez en 1996 y ello reflejó el empleo de combinaciones de antirretrovirales y prevención de infecciones secundarias por oportunistas.

El SIDA en niños aumentó conforme lo hizo el número de mujeres infectadas por el virus. Se calculó que en 1991 en Estados Unidos 1 650 neonatos se contagiaron de dicha partícula. El número de infecciones nuevas disminuyó impresionantemente al contar en 1994 con la terapia a base de zidovudina en fase prenatal durante el parto y etapa neonatal (véase adelante). A partir de las cifras de transmisión de 25 a 30% sin intervención terapéutica, las farmacoterapias han disminuido los índices de transmisión en Estados Unidos a cifras menores de 2 por ciento. No ha cesado la transmisión madre-hijo, porque en la madre no se diagnostica la infección por el virus y no se emprende tratamiento médico.

Los buenos resultados para disminuir la transmisión perinatal de VIH en Estados Unidos no se han podido reproducir en muchos países pobres, y en particular en la región subsahariana de África las cifras de transmisión madre-hijo siguen siendo grandes.

C. Vías de transmisión

En dos líquidos corporales, la sangre y el semen, aparece un número grande de virus de VIH; ellos se transmiten durante el contacto sexual (incluido el sexo genital-oral), por exposición de los progenitores a sangre o hemoderivados contaminados, y de la madre al producto en el periodo perinatal. La presencia de otras enfermedades de transmisión sexual, sífilis, gonorrea o herpes simple de tipo 2 agrava el peligro de transmisión sexual de VIH incluso 100 veces, porque la inflamación y las úlceras facilitan la transferencia del virus a través de la barrera que oponen las mucosas. Sujetos que poseen el virus y están asintomáticos lo transmiten. Desde la primera descripción de SIDA se identificó a la promiscuidad homosexual como un grave factor de riesgo de adquirir la enfermedad. Dicho riesgo se agrava en proporción al número de contactos sexuales con diferentes compañeros.

La transfusión de sangre o hemoderivados infectados constituye un mecanismo eficaz de transmisión del virus. Por ejemplo, más del 90% de hemofílicos que recibieron concentrados contaminados del factor de coagulación en Estados Unidos (antes de que se detectara VIH) terminaron por generar anticuerpos contra el virus. Los usuarios de drogas ilícitas inyectables suelen infectarse al compartir agujas contaminadas; dicho mecanismo también explica una fracción importante de los nuevos casos de síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

Se necesitan métodos de prueba cuidadosos para que los abastos de sangre sean seguros. La Organización Mundial de la Salud ha señalado que la donación voluntaria y no remunerada de sangre es mucho más segura que las donaciones pagadas. En 1996, se señaló que el peligro de infección de VIH transmitido por transfusiones en Estados Unidos era muy pequeño (en promedio un caso por 500 000 transfusiones).

Las cifras de transmisión de la madre a su hijo varían de 13 a 40% en mujeres no tratadas. Los pequeños se infectan en su vida intrauterina, durante el parto, o más frecuentemente por el consumo de leche materna. Si se descartara esta última práctica, se sabe que, en promedio, 30% de las infecciones se producen en el útero y 70% durante el parto. Los datos indican que 33 a 50% de las infecciones perinatales por VIH en África provienen del consumo de leche materna. La transmisión durante el amamantamiento aparece muy tempranamente (a los seis meses) y un factor importante de riesgo para que ocurra es que la madre tenga un número grande de virus en su sangre.

Los profesionales asistenciales han sido infectados por VIH después de un pinchazo de aguja, con sangre contaminada. El número de infecciones por ese mecanismo es relativamente pequeño, en comparación con el número de pinchazos de aguja que han ocurrido, en que se inoculó sangre contaminada (riesgo calculado de transmisión, 0.3%). El riesgo de transmisión es aún menor después de que hay exposición de una membrana mucosa a sangre infectada (en promedio 0.09%). Lo anterior es muy diferente de lo que ocurre con el peligro de infección por el virus C de hepatitis después de un pinchazo de aguja, que es de 1.8%, y la infección por el virus B de la misma enfermedad, que es de 6 a 30 por ciento.

Los mecanismos de transmisión (por la sangre, contacto sexual y nacimiento) descritos explican casi todos los casos de infecciones por virus de inmunodeficiencia humana. Ha surgido preocupación grande de que pudieran surgir en circunstancias raras otros tipos de transmisión como sería el contacto "casual" con personas o insectos vectores infectados por VIH, pero en tales situaciones casuales no hay prueba de que se produzca la transmisión del virus.

Prevención, tratamiento y control

A. Antivirales

En Estados Unidos se ha aprobado un número cada vez mayor de antivirales para tratar infecciones por VIH (cap. 30). Entre las clases de tales medicamentos están inhibidores nucleósidos y no nucleósidos de la enzima viral transcriptasa inversa, e inhibidores de la enzima proteasa del virus. Los inhibidores recién mencionados son antivirales potentes, porque la actividad de

proteasa es absolutamente esencial para que surja un virus infectante y la enzima del virus es diferente de las proteasas de células humanas. Nuevas clases de fármacos incluyen inhibidores de la fusión aprobados originalmente en el 2003, que bloquean la penetración del virus en las células; inhibidores de la penetración, aprobados originalmente en 2007 que bloquean la unión del correceptor CCR5 por parte del virus, e inhibidores de la integrasa, aprobados por primera vez en 2007, que interfieren en la enzima viral necesaria para la replicación de virus de inmunodeficiencia humana.

En 1996 se pudo contar con combinaciones de antirretrovirales, denominadas terapia antirretroviral altamente activa (HAART, *highly active antiretroviral therapy*). En ocasiones suprime la replicación viral a un número por debajo de los límites de detección en el plasma; disminuye el número de virus en los tejidos linfoides; permite la recuperación de las respuestas inmunitarias contra patógenos oportunistas y prolonga la vida del paciente. A pesar de ello, la terapia en cuestión no cura las infecciones por VIH-1. El virus persiste en reservorios o depósitos de células infectadas en forma latente que viven largo tiempo, como serían los linfocitos T anamnésicos CD4. Al interrumpir a la HAART o si la terapia es ineficaz, hay un rebote por reactivación en la producción del virus.

El uso de un solo antirretroviral suele hacer que surjan rápidamente mutantes farmacorresistentes de VIH, pero lo único que hacen las combinaciones terapéuticas orientadas a múltiples fases de la replicación del virus es retrasar la aparición de los mutantes. Sin embargo, dichas formas que surgen y que son resistentes a un inhibidor de proteasa también lo son a otros fármacos similares.

La transmisión de variantes farmacorresistentes puede menoscabar futuras opciones terapéuticas. En 2004 y 2005, los sujetos que no habían recibido tratamiento y que tenían infecciones por VIH recién diagnosticadas, transportaron virus con mutaciones farmacorresistentes en 8 y 10% de los casos en Estados Unidos y en Europa, respectivamente. De los lactantes infectados en fase perinatal en Estados Unidos en 2002, 19% tuvieron virus que mostraban mutaciones farmacorresistentes múltiples.

Han sido satisfactorios los resultados con las combinaciones de fármacos y han logrado que la infección por VIH se torne crónica y tratable. Con ellas es posible suprimir en forma duradera la replicación viral, y obtener la restauración de la función inmunitaria, pero el tratamiento debe continuar durante toda la vida y surge a veces resistencia a fármacos. Además, los regímenes actuales son caros, no todos los pacientes los toleran, y pueden surgir efectos adversos (como lipodistrofia). A nivel mundial la mayor parte de los sujetos infectados no tiene en absoluto acceso a fármacos contra el virus de inmunodeficiencia humana.

La zidovudina (azidotimidina; AZT) disminuye significativamente la transmisión de VIH de la madre a su hijo. El régimen de administración de dicho fármaco a la madre durante el embarazo y durante el parto y al hijo después de nacer, disminuyó el riesgo de transmisión perinatal 65 a 75% (de 25%, en promedio, a menos de 2%). Dicho tratamiento disminuye la transmisión vertical y todos los niveles de la carga o número de virus de la gestante. Se ha demostrado que un ciclo más breve de AZT aplicado a madres infectadas o un régimen simple de nevirapina disminuyen 50% la transmisión y son inocuos para utilizar en naciones en fase de desarrollo. Sin embargo, la elevada cifra de transmisión del virus por el amamantamiento puede anular los beneficios de la farmacoterapia perinatal de la madre.

B. Vacunas contra VIH

Una vacuna segura y eficaz constituiría el mejor medio para controlar la epidemia mundial de síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Las vacunas hechas de virus típicamente son preventivas, es decir, se aplican a personas no infectadas para evitar la infección o la enfermedad. Sin embargo, todas las vacunas en evaluación contra VIH hasta 2009 resultaron ineficaces para tales fines.

La obtención de la vacuna es difícil, porque el VIH muestra mutación rápida, no se expresa en todas las células infectadas y no es eliminado del todo por la respuesta inmunitaria del hospedador después de infección primaria. Las variedades de VIH presentan variación extraordinaria, en particular en sus antígenos de la cubierta (variabilidad que pudiera estimular la aparición de mutantes resistentes a la neutralización). Se desconocen los hechos correlacionados propios de la inmunidad protectora, por lo que igualmente se desconocen las respuestas inmunitarias de tipo celular, humoral o ambas que debe desencadenar la vacuna.

Ante los problemas de la inocuidad, se considera con temor el uso de vacunas basadas en virus atenuados o inactivados, o de virus de simios. Otras posibles candidatas serían las proteínas virales obtenidas por bioingeniería (en particular las glucoproteínas de la cubierta), administradas con coadyuvantes o con vectores virales heterólogos. Están en estudio innumerables métodos nuevos de vacunación. Se han diseñado estrategias de geneterapia, orientadas a lograr “inmunización intracelular”, es decir, modificar genéticamente células destinatarias en forma tal que sean resistentes al virus de inmunodeficiencia humana.

Un gran obstáculo para la obtención de la vacuna es no contar con un modelo animal apropiado, de virus de inmunodeficiencia humana. Los chimpancés son los únicos susceptibles al virus. Además de que son pocos los animales para estudios, los chimpancés terminan por mostrar solamente viremia y anticuerpos, pero no inmunodeficiencia. En el modelo de SIDA de simios, en macacos con virus de inmunodeficiencia de simios, la enfermedad se desarrolla, y es útil para estudios de obtención de vacunas.

C. Microbicidas tópicos

En muchos países del mundo las mujeres comprenden, como mínimo, la mitad de las personas que viven con VIH/SIDA y en la mayor parte de los casos surge la infección por contacto heterosexual. Están en marcha intentos para sintetizar microbicidas tópicos seguros y eficaces para evitar la transmisión sexual del virus. Hasta la fecha, ninguno de los compuestos en estudio ha sido eficaz en investigaciones en seres humanos.

D. Medidas de control

Al no lograr el control por medio de fármacos o vacunas, la única forma de evitar la propagación epidémica de VIH es seguir un modo de vida que lleve al mínimo o elimine los factores de alto riesgo expuestos en párrafos anteriores. Hasta la fecha no se ha corroborado que surja la enfermedad por exposición común, como sería al estornudar, toser, compartir comidas u otros contactos casuales.

El virus de inmunodeficiencia humana se puede transmitir en todo tipo de sangre, razón por la cual los donadores deben ser sometidos a pruebas en busca de anticuerpos. Los métodos

hechos adecuadamente para identificarlos al parecer detectan a casi todos los portadores de VIH-1 y VIH-2. En situaciones en que se practica el cribado extenso de donadores de sangre para identificar exposición al virus, y el rechazo de sangre contaminada, ha desaparecido prácticamente la transmisión por transfusión de sangre.

Las autoridades sanitarias han recomendado transmitir a las personas que tienen una infección corroborada por VIH, la siguiente información y orientación:

1. Casi todas las personas seguirán mostrando la infección durante su vida y terminarán por presentar la enfermedad.
2. Las personas mencionadas, a pesar de no tener síntomas, pueden transmitir el virus a otras. Se recomienda la evaluación y vigilancia médicas hechas con regularidad.
3. Las personas infectadas deben abstenerse de donar sangre, plasma, órganos, otros tejidos o semen.
4. Existe el peligro de infectar a terceros, en el coito vaginal o anal, por contacto oral-genital o al compartir agujas. El empleo constante y apropiado de condones disminuye la transmisión del virus, aunque la protección no es absoluta.
5. No deben compartirse cepillos de dientes, maquinillas de rasurar y otros objetos que pudieran estar contaminados con sangre.
6. Las mujeres seropositivas o las que tienen contacto sexual con varones seropositivos, por sí mismas están expuestas a un mayor riesgo de contagiarse de virus de inmunodeficiencia humana. Si se embarazan, el producto de la concepción también está expuesto a un gran riesgo de contagiarse con virus de inmunodeficiencia humana.
7. Después de accidentes que ocasionan pérdida sanguínea, hay que limpiar las superficies contaminadas con blanqueadores caseros diluidos en ese momento, a razón de una parte por 10 de agua.
8. Es importante esterilizar por vapor en autoclave dispositivos que hayan perforado la piel como agujas hipodérmicas y de acupuntura antes de utilizarlas de nuevo, o será mejor desecharlas de manera segura. Los instrumentos para uso odontológico deben esterilizarse con calor en los lapsos que median entre la atención de uno y otro enfermo. De ser posible se utilizarán agujas y equipo desechables.
9. Al solicitar atención médica u odontológica por enfermedades recurrentes, las personas infectadas deben señalar a los encargados de su atención, que son seropositivas, para emprender la evaluación apropiada y tomar precauciones para evitar el contagio a los demás.
10. A personas que pudieran haber quedado infectadas como consecuencia de su contacto con individuos seropositivos (como compañeros sexuales, personas con quienes se han compartido agujas, neonatos y lactantes hijos de mujeres seropositivas) se planteará la posibilidad de practicar pruebas para detectar anticuerpos contra virus de inmunodeficiencia humana.
11. Muchas personas con positividad en la prueba para identificar VIH no necesitan pensar en un cambio de empleo o actividad, salvo que su labor entrañe la posibilidad notable de exponer a terceros a su sangre u otros líquidos corporales. No existen pruebas de que la manipulación de alimentos permita la transmisión de virus de inmunodeficiencia humana.
12. Las personas seropositivas que participen en tareas de asistencia clínica en que se practican métodos penetrantes, o que tienen lesiones cutáneas, deben seguir precauciones similares a las recomendadas para los portadores de hepatitis B, para proteger a los pacientes del peligro de infección.
13. Se permitirá a los niños con positividad de sus pruebas acudir a la escuela, porque el contacto casual entre escolares no conlleva riesgo. Sin embargo, habrá que recurrir a un entorno más restringido en el caso de preescolares o menores que no controlan sus secreciones corporales, que muerden o están expuestos a lesiones húmedas.

E. Enseñanza orientada a la salud

Al no contar con una vacuna o un tratamiento, la prevención de casos de SIDA depende de los buenos resultados de proyectos de enseñanza de la educación, que comprendan cambios conductuales. Se resumen a continuación los mensajes de enseñanza de salud para el público en general: 1) es importante usar un condón como protección en todas las relaciones sexuales (fuera de relaciones monógamas en que no se detecten anticuerpos contra VIH); 2) no se compartirán agujas o jeringas no estériles; 3) toda mujer que pudiera estar expuesta debe solicitar la práctica de identificación de anticuerpos contra VIH antes de embarazarse y si la prueba es positiva, pensará en evitar el embarazo, y 4) si se cuenta con otras posibilidades seguras de alimentación, las mujeres infectadas por VIH no amamantarán a su hijo para aminorar la transmisión del virus a su prole.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Se clasifica al VIH-1 como miembro del género *Lentivirus* de la familia Retroviridae. Los lentivirus
   (A) Contienen un genoma de DNA
   (B) Causan tumores en ratones
   (C) Infectan células del sistema inmunitario
   (D) Poseen secuencias similares endógenas en todas las células normales
   (E) Originan enfermedad neurológica de evolución rápida
2. VIH-1 codifica gp120, glucoproteína de la cubierta, y la proteína mencionada
   (A) Causa fusión con la membrana
   (B) Se liga al correceptor viral en la superficie celular
   (C) Es conservada netamente entre diferentes virus
   (D) No desencadena la aparición de anticuerpos neutralizantes
   (E) Induce la producción de quimiocinas
3. La epidemia mundial de VIH/SIDA aún no cesa y sigue en aumento. En el año 2007 el área geográfica que incluía al mayor número de personas infectadas por dicho virus después de los países subsaharianos de África era
   (A) Centroamérica y Sudamérica y países del Caribe
   (B) Este de Asia, incluida China
   (C) Estados Unidos
   (D) Sur y sureste asiático
   (E) Este de Europa y Asia central
4. La evolución típica de una infección por VIH, sin tratamiento, abarca 10 años o más. Por lo regular se advierte un periodo largo (latencia clínica) entre la fecha de la infección primaria y la aparición de síndrome de inmunodeficiencia adquirida. En ese periodo de latencia clínica
   (A) No es detectable el VIH en el plasma
   (B) No cambia el número de linfocitos CD4
   (C) No se transmite el virus a otras personas

(D) Aparece el virus en órganos linfoides
(E) No surgen anticuerpos neutralizantes

5. En sujetos infectados con VIH-1 a veces hay infecciones virales coexistentes (coinfecciones) y pueden contribuir a la morbilidad y la mortalidad. La coinfección más frecuente en sujetos VIH-1 positivos en Estados Unidos comprende
   (A) Virus de hepatitis C
   (B) Virus de hepatitis D
   (C) VIH de tipo 2
   (D) Virus linfotrópico T de humanos
   (E) Herpesvirus del sarcoma de Kaposi
6. De las personas siguientes, ¿cuál estaría expuesta a un mayor peligro de contagio de infección por VIH?
   (A) Una abuela que vive en el mismo domicilio con un pariente VIH-positivo
   (B) Un turista que fue a Botswana y que tuvo contacto sexual con una prostituta
   (C) Recepcionista de una clínica de SIDA en un hospital
   (D) Una maestra con un niño VIH-positivo en su salón de clases
   (E) Un jugador de béisbol que tiene un compañero de juego VIH-positivo
7. Una enfermera de 36 años de edad se pinchó con una aguja que tenía sangre de un paciente VIH-positivo. Seis meses después había positividad del suero, en una prueba EIA, pero los resultados fueron equívocos cuando se repitió la prueba y el resultado fue negativo en la inmunotransferencia. Ella
   (A) Probablemente esté infectada de VIH
   (B) Está en el periodo de ventana entre la infección aguda por VIH y la seroconversión
   (C) Probablemente no esté infectada de VIH
   (D) Puede estar infectada por una cepa de VIH resistente a fármacos
   (E) Puede no evolucionar a largo plazo
8. Se hizo el diagnóstico de infección por *Pneumocystis jiroveci* a un varón de 41 años infectado de VIH que había rechazado la administración de antirretrovirales. El paciente en cuestión
   (A) Muestra probablemente un recuento de linfocitos T CD4 menor de 200 células/microlitro
   (B) Muestra un riesgo alto de presentar cáncer de pulmón
   (C) Su esperanza de vida es de unos cinco años
   (D) Es probable que su viremia esté en fase de disminución
   (E) Es poco probable que presente demencia en dicha fase
9. Un varón de 48 años VIH-positivo que tenía 40 linfocitos CD4 señaló amnesias a su médico. Cuatro meses más tarde mostró parálisis y falleció. En la necropsia se identificó desmielinización de muchas neuronas en el cerebro y en la microscopia electrónica hubo cúmulos de partículas virales sin cubierta en las neuronas. La causa más probable de su enfermedad es
   (A) Adenovirus de tipo 12
   (B) Virus Coxsackie B2
   (C) Parvovirus B19
   (D) Virus de Epstein-Barr
   (E) Virus JC
10. La terapia por combinación de antirretrovirales altamente activos contra la infección por VIH suele incluir un inhibidor de proteasa como el saquinavir. El inhibidor mencionado
   (A) Es eficaz contra VIH-1, pero no contra VIH-2
   (B) Rara vez origina mutantes resistentes (de VIH)
   (C) Inhibe una fase tardía en la replicación del virus
   (D) Degrada el receptor CD4 en la superficie de las células
   (E) Interfiere con la interacción del virus con un correceptor
11. En una persona con infección con VIH, entre los posibles líquidos infectantes están todos los que señalados, excepto
   (A) Sangre
   (B) Saliva visiblemente contaminada con sangre
   (C) Orina no contaminada visiblemente con sangre
   (D) Secreciones de genitales
   (E) Líquido amniótico
12. De la población que rebasó el millón de personas que, según cálculos, vivían con VIH en Estados Unidos al finalizar 2007, de acuerdo con los expertos, ¿cuántas desconocían que tenían la infección?
   (A) 5%, aproximadamente
   (B) 10%, aproximadamente
   (C) 20%, aproximadamente
   (D) 25%, aproximadamente
   (E) 30%, aproximadamente
   (F) 50%, aproximadamente

Respuestas

1. C	4. D	7. C	10. C
2. B	5. A	8. A	11. C
3. D	6. B	9. E	12. D

BIBLIOGRAFÍA

Apetrei C, Robertson DL, Marx PA: The history of SIVs and AIDS: Epidemiology, phylogeny, and biology of isolates from naturally SIV infected non-human primates (NHP) in Africa. Front Biosci 2004;9:225. [PMID: 14766362]

Desrosiers RC: Nonhuman lentiviruses. In: *Fields Virology,* 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Freed EO, Martin MA: HIVs and their replication. In: *Fields Virology,* 5th ed. Knipe DM et al (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Moore JP, Doms RW: The entry of entry inhibitors: A fusion of science and medicine. Proc Natl Acad Sci USA 2003;100:10598. [PMID: 12960367]

Patel K et al: Long-term effectiveness of highly active antiretroviral therapy on the survival of children and adolescents with HIV infection: A 10-year follow-up study. Clin Infect Dis 2008;46:507. [PMID: 18199042]

Patrick MK, Johnston JB, Power C: Lentiviral neuropathogenesis: Comparative neuroinvasion, neurotropism, neurovirulence, and host neurosusceptibility. J Virol 2002;76:7923. [PMID: 12133996]

Paul ME, Schearer WT: Pediatric human immunodeficiency virus infection. In: *Pediatric Allergy: Principles and Practice*. Leung DYM, Sampson HA, Geha RS, Szefler SJ (editors). Mosby, 2003.

Revised recommendations for HIV testing of adults, adolescents, and pregnant women in health-care settings. MMWR Recomm Rep 2006;55(RR-14):1.

Special issue: 25 years of HIV. Trends Microbiol 2008;16(No. 12). [Entire issue.]

Twenty-five years of HIV/AIDS—United States, 1981–2006. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2006;55(No. 21):585.

Updated U.S. Public Health Service guidelines for the management of occupational exposures to HIV and recommendations for postexposure prophylaxis. MMWR Recomm Rep 2005;54(RR-9):1.

U.S. Public Health Service guidelines for testing and counseling blood and plasma donors for human immunodeficiency virus type 1 antigen. MMWR Recomm Rep 1996;45(RR-2):1.



CAPÍTULO 45

Micología médica

Thomas G. Mitchell, PhD*

La micología se ocupa del estudio de los hongos. En promedio, se han descrito unas 80 000 especies de ellos, pero poseen importancia médica menos de 400, y menos de 50 especies ocasionan más de 90% de las micosis de humanos y otros animales. Por el lado contrario, muchas especies de hongos son beneficiosas para el género humano. Están en la naturaleza y son esenciales para la degradación y el reciclado de materia orgánica. Algunos realmente mejoran la calidad de vida de los humanos al contribuir a la producción de alimentos y bebidas, como quesos, pan y cerveza. Otros hongos han aportado metabolitos bioactivos secundarios y útiles en la medicina como los antibióticos (penicilina), y los inmunodepresores (como las ciclosporinas). Los genetistas y los biólogos moleculares han aprovechado los hongos como modelos para investigar diversos fenómenos eucariotos. Los hongos ejercen su máximo impacto económico como fitopatógenos; la industria agrícola afronta cada año enormes pérdidas de cosechas como consecuencia de micosis del arroz, el maíz, los granos y otras plantas.

Los hongos son organismos eucariotos y cada uno tiene al menos un núcleo y una membrana nuclear, un retículo endoplásmico, mitocondrias y un aparato secretor. Muchos son aerobios obligados o facultativos. Son quimiótrofos, secretores de enzimas que degradan una amplia variedad de sustratos orgánicos en nutrientes solubles que luego son absorbidos pasivamente o integrados a la célula por transporte activo.

Las **micosis** son las infecciones producidas por hongos. Muchos de estos organismos patógenos son exógenos y su hábitat natural se sitúa en el agua, la tierra y los restos orgánicos. Las micosis que aparecen con la máxima incidencia, como son la candidosis y las dermatofitosis, son causadas por hongos que forman parte de la flora microbiana normal o que están muy adaptados a sobrevivir en el hospedador humano. Por comodidad es posible clasificar las micosis en superficiales, cutáneas, subcutáneas, sistémicas o generalizadas y por oportunistas (cuadro 45-1). El agrupamiento de las micosis en las categorías mencionadas muestra su puerta corriente de entrada en el sitio inicial de ataque. Sin embargo, surgen enormes traslapes o puntos comunes, porque las micosis generalizadas muestran manifestaciones subcutáneas y viceversa. Muchos sujetos que terminan por mostrar infecciones por oportunistas tienen graves enfermedades primarias y disminución de sus defensas inmunitarias; sin embargo, las micosis sistémicas primarias también aparecen en tales enfermos y los gérmenes oportunistas también pueden infectar a sujetos inmunocompetentes. Durante la infección, muchos pacientes terminan por mostrar intensas respuestas inmunitarias de tipo celular y humoral a los antígenos de los hongos.

Los progresos en la medicina han prolongado en grado significativo la supervivencia de sujetos con cáncer, SIDA y los receptores de trasplantes de blastos o de órganos; como consecuencia, ha aumentado impresionantemente la incidencia de micosis por oportunistas. Los hongos patógenos no producen toxinas potentes y los mecanismos de patogenia de hongos son complejos y poligénicos. Muchas micosis son difíciles de tratar. Los hongos son eucariotos, y por esa razón comparten innumerables genes homólogos, productos génicos y vías, con sus hospedadores humanos. Como consecuencia, son pocos los puntos de ataque particulares en que actúen quimioterápicos y antibióticos eficaces. Por fortuna, el interés por los hongos importantes en medicina va en aumento y también la búsqueda de factores de virulencia y de posibles puntos en que actúen las terapias.

*Associate Professor, Department of Molecular Genetics and Microbiology, Duke University Medical Center, Durham, North Carolina.

GLOSARIO

Artroconidios (artrosporas): conidios que surgen por la fragmentación de las hifas (fig. 45-1).

Ascosporas: después de la meiosis se forman cuatro a ocho meiosporas dentro de un asca.

Basidiosporas: después de la meiosis por lo común se forman cuatro meiosporas en la superficie de una estructura especializada, el basidio, en forma de clava.

Blastoconidios (blastosporas): formación de conidios por el fenómeno de gemación (como las levaduras).

Cigosporas: después de la meiosis surge una gran cigospora, de pared gruesa.

Clamidosporas (clamidoconidios): conidios grandes, de pared gruesa y por lo común esféricos, producidos por las hifas terminales o intercalares.

Conidios: estructuras reproductivas asexuales (mitosporas) producidas por la transformación de una levadura vegetativa o una hifa, o por una célula conidiógena especializada, que puede ser sencilla o compleja y elaborada. Los conidios pueden formarse en hifas especializadas llamadas **conidióforos**. Los **microconidios** son pequeños y los **macroconidios** son grandes o multicelulares.

Espora: propágulo especializado con una mayor capacidad de supervivencia, como oponer resistencia a situaciones adversas o poseer rasgos estructurales que facilitan la dispersión. Las esporas pueden surgir por reproducción asexual (como los conidios, o las esporangiosporas) o sexual (véase adelante). En este último caso, las células haploides de cepas compatibles se unen por un proceso de plasmogamia, cariogamia, y meiosis.

Esporangiosporas: estructuras asexuales que son características de los cigomicetos; son esporas mitóticas producidas dentro de un esporangio "encerrado" apoyado a menudo por un esporangióforo (figs. 45-2 y 45-3).

Fialoconidios: conidios producidos por una célula conidiógena en forma de "vasija o florero" llamada **fiálide** (como *Aspergillus fumigatus*, fig. 45-6).

Hifas: filamentos tubulares ramificados (2 a 10 µm de ancho) de los hongos; constituyen la forma de crecimiento de mohos. Muchas de las hifas están separadas por paredes porosas transversales o **tabiques** (**septos**), pero las hifas de cigomicetos de manera característica tienen pocos tabiques. Las hifas vegetativas o de substrato fijan la colonia y absorben nutrientes. Las hifas aéreas sobresalen de la colonia y poseen las estructuras reproductivas.

Hongos dematiáceos: hongos cuyas paredes contienen melanina que les imparte un color pardo o negro.

Hongos dimórficos: hongos que poseen dos formas de proliferación: como mohos o como levaduras, y que se desarrollan en diversas situaciones de multiplicación (por ejemplo, *Blastomyces dermatitidis* forma hifas *in vitro* y levaduras en los tejidos).

Hongos imperfectos: los que no muestran reproducción sexual; están representados solamente por un estado mitótico o asexual de reproducción llamado **anamorfosis**. Se les identifica con arreglo a sus estructuras asexuales de reproducción (como las mitosporas).

Hongos perfectos: hongos que pueden tener reproducción sexual, que constituye el estado de **teleomorfosis**.

Levaduras: hongos unicelulares, cuya forma va de esférica a elipsoide (3 a 15 µm), por lo común se reproducen por gemación.

Micelio: masa o conjunto de hifas, o colonia de mohos.

Mohos: colonias de hifas o micelios, o forma de proliferación.

Seudohifas: cadenas de yemas (gemantes) alargadas, o blastoconidios.

Tabique (septo): paredes transversales de las hifas, típicamente perforadas.

CUADRO 45-1 **Las micosis principales y los hongos que las causan**

Categoría	Micosis	Hongos causales
Superficiales	Pitiriasis versicolor Tiña negra Piedra blanca Piedra negra	Especies de *Malassezia* *Hortaea werneckii* Especies de *Trichosporon* *Piedraia hortae*
Cutáneas	Dermatofitosis Candidosis de piel, mucosa o uñas	Especies de *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton floccosum* *Candida albicans* y otras especies de *Candida*
Subcutáneas	Esporotricosis Cromoblastomicosis Micetoma Feohifomicosis	*Sporothrix schenckii* *Phialophora verrucosa*, *Fonsecaea pedrosoi*, y otras *Pseudallescheria boydii*, *Madurella mycetomatis*, y otras *Exophiala*, *Bipolaris*, *Exserohilum* y otros mohos dematiáceos
Endémicas (primarias, sistémicas)	Coccidioidomicosis Histoplasmosis Blastomicosis Paracoccidioidomicosis	*Coccidioides posadasii* y *Coccidioides immitis* *Histoplasma capsulatum* *Blastomyces dermatitidis* *Paracoccidioides brasiliensis*
Oportunistas	Candidosis sistémica Criptococosis Aspergilosis Hialohifomicosis Faehifomicosis Mucormicosis (cigomicosis) Peniciliosis	*Candida albicans* y otras especies de *Candida* *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii* *Aspergillus fumigatus* y otras especies de *Aspergillus* Especies de *Fusarium, Paecilomyces, Trichosporon* y otros mohos hialinos *Cladophialophora bantiana;* especies de *Alternaria, Cladosporium, Bipolaris, Exserohilum* y otros mohos dematiáceos Especies de *Rhizopus, Absidia, Cunninghamella,* y otros cigomicetos *Penicillium marneffei*



FIGURA 45-1 Artroconidios formados por la fragmentación de hifas, que se transforman en conidios compactos. 400×.

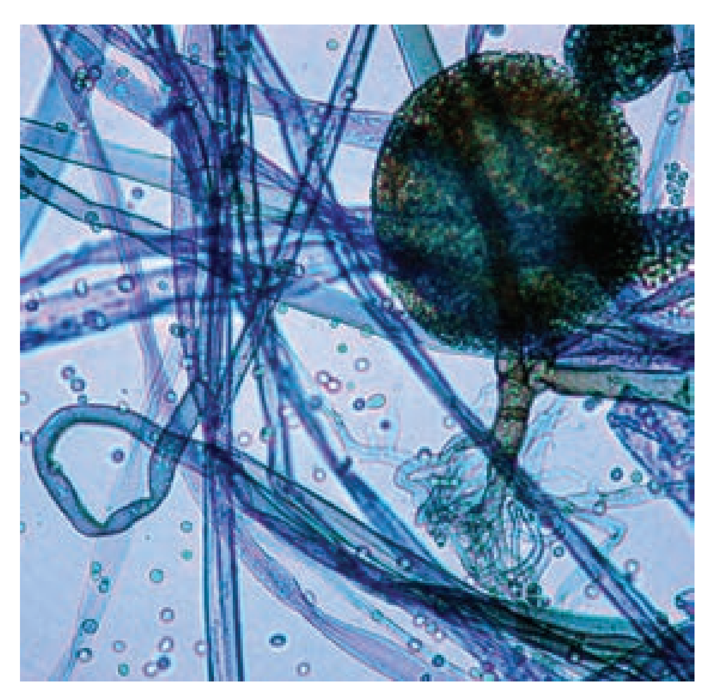


FIGURA 45-2 *Rhizopus*. El esporangio de este moho cigomiceto ha liberado sus esporangiosporas, pero sigue unido al esporangióforo de sostén y se advierten los rizoides en la base del esporangióforo. 200×.

PROPIEDADES GENERALES Y CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS

Como se señaló en el capítulo 1, los hongos al proliferar asumen dos formas básicas que son la de **levaduras** y la de **mohos**. Esta última forma ocurre por la producción de colonias filamentosas multicelulares integradas por túbulos cilíndricos ramificados llamados **hifas**, cuyo diámetro varía de 2 a 10 micrómetros (μm). Recibe el nombre de **micelio** la masa de hifas entremezcladas, acumulada durante la fase de crecimiento activo. Algunas hifas se dividen y forman células gracias a la intervención de estructuras cruzadas llamadas tabiques o **septos**, que de manera típica se forman a intervalos regulares durante la fase de hifas. Un grupo de mohos de importancia en medicina que son los cigomicetos, produce hifas que rara vez están tabicadas. Las hifas que penetran en el medio de sustento y absorben nutrientes son las vegetativas o de sustrato. A diferencia de ello, las hifas aéreas sobresalen de la superficie del micelio y por lo común poseen las estructuras reproductivas del moho. En una situación de proliferación estandarizada en el laboratorio, los mohos producen colonias con características propias como la rapidez de proliferación, textura y pigmentación. Es posible conocer el género (y tal vez la especie) de muchos mohos que afectan humanos, por el examen microscópico de la ontogenia y la morfología de sus esporas reproductivas asexuales o conidios (figs. 45-2 a 45-8).

Las levaduras son células únicas de formas esféricas o elipsoidales, y diámetro que varía de 3 a 15 micrómetros. Muchas de ellas se reproducen por gemación, y algunas especies producen yemas que de manera característica no se desprenden, y terminan por alargarse; el paso siguiente en ese proceso produce una cadena de levaduras alargadas llamadas **seudohifas**. Las colonias de tales células por lo común son suaves, opacas, de 1 a 3 mm de diámetro y de color crema. La morfología de las colonias y la microscópica de muchas levaduras son muy semejantes, razón por la cual se identifican las especies de ellas con base en estudios fisiológicos y unas cuantas diferencias morfológicas clave. Algunas especies de hongos son dimórficas y pueden proliferar en la forma de levadura o moho, según las características ambientales.

Todos los hongos cuentan con una pared esencial rígida que es el elemento que les da su forma. Las paredes están compuestas en gran medida de capas de carbohidratos (cadenas largas de polisacáridos) y también glucoproteínas y lípidos. Durante la infección las paredes de los hongos desempeñan funciones biopatológicas importantes. Los componentes superficiales de la pared son los que median la fijación del hongo a las células del hospedador. Los polisacáridos de la pared pueden activar la cascada de complemento y desencadenar una reacción inflamatoria; el hospedador casi no los degrada y se les puede detectar por medio de tinciones especiales. La pared libera antígenos inmunodominantes que pueden originar respuestas inmunitarias de tipo celular y anticuerpos característicos útiles para el diagnóstico. Algunas levaduras y mohos poseen paredes melanizadas, que le dan un color pardo o negro y los hongos con tales características se denominan **dematiáceos**. En varios estudios, la melanina ha sido vinculada con la virulencia.

Además de su proliferación vegetativa en la forma de levaduras o mohos, los hongos producen esporas para mejorar su supervivencia. Éstas pueden ser dispersadas fácilmente, son más resistentes a situaciones adversas y germinan cuando surgen circunstancias adecuadas para la proliferación. Las esporas derivan de la reproducción asexual o de la sexual, que son los estados anamórfico y teleomórfico, respectivamente. Las esporas asexuales son los descendientes mitóticos, es decir, las mitosporas, y genéticamente idénticas. Los hongos de importancia médica generan dos grandes tipos de esporas asexuales o **coni-**

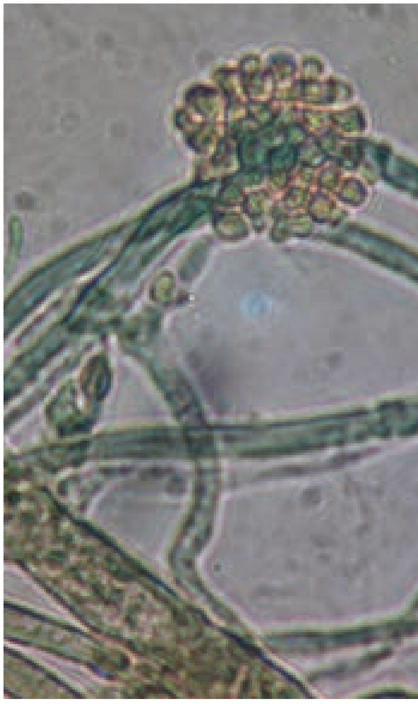


FIGURA 45-3 *Cunninghamella bertholletiae,* otro cigomiceto patógeno. Sus esporangiosporas son producidas en el interior de los esporangios que están unidos a una vesícula y sostenidos por un esporangióforo. 400×.

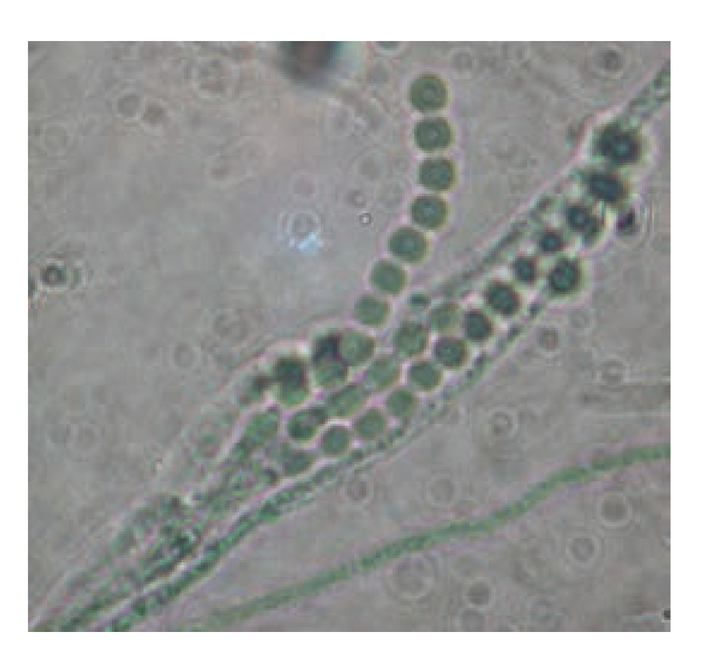


FIGURA 45-4 *Penicillium.* Las cadenas de conidios son generadas por fiálides, sostenidas por un conidióforo ramificado. El conidio basal es nuevo. 400×.



FIGURA 45-5 *Scopulariopsis.* Esta cadena de conidios fue producida por un anélide, otro tipo de célula conidiógena. 400×.

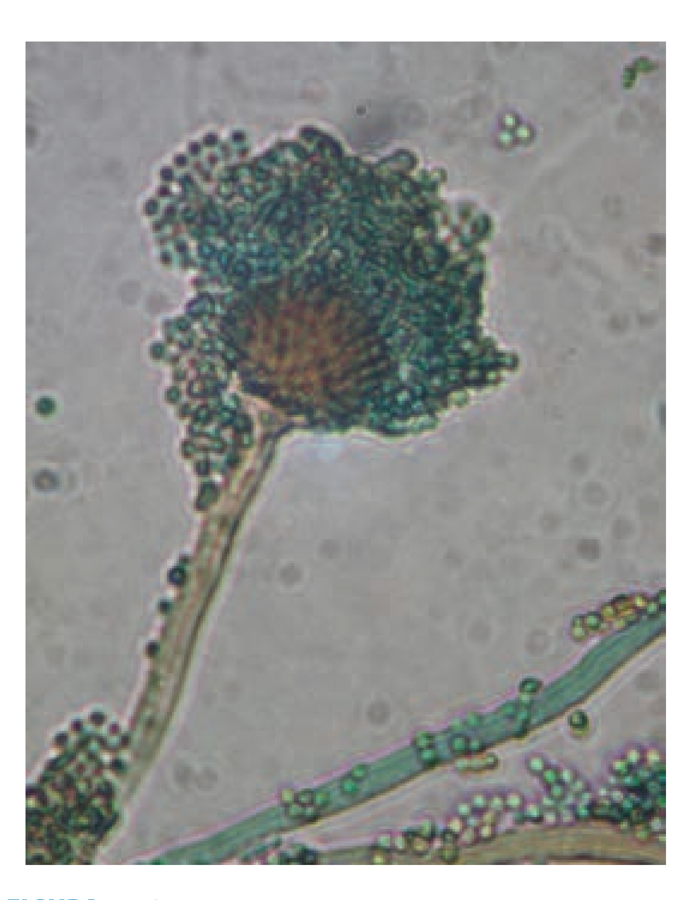


FIGURA 45-6 *Aspergillus fumigatus.* Las fiálides se forman por encima de la vesícula compacta en el extremo de un conidióforo largo. Los conidios basales son los más nuevos. Los conidios maduros tienen paredes rugosas. 400×.



FIGURA 45-7 *Bipolaris.* Hongo dematiáceo que produce macroconidios de pared gruesa, característicos. 400×.

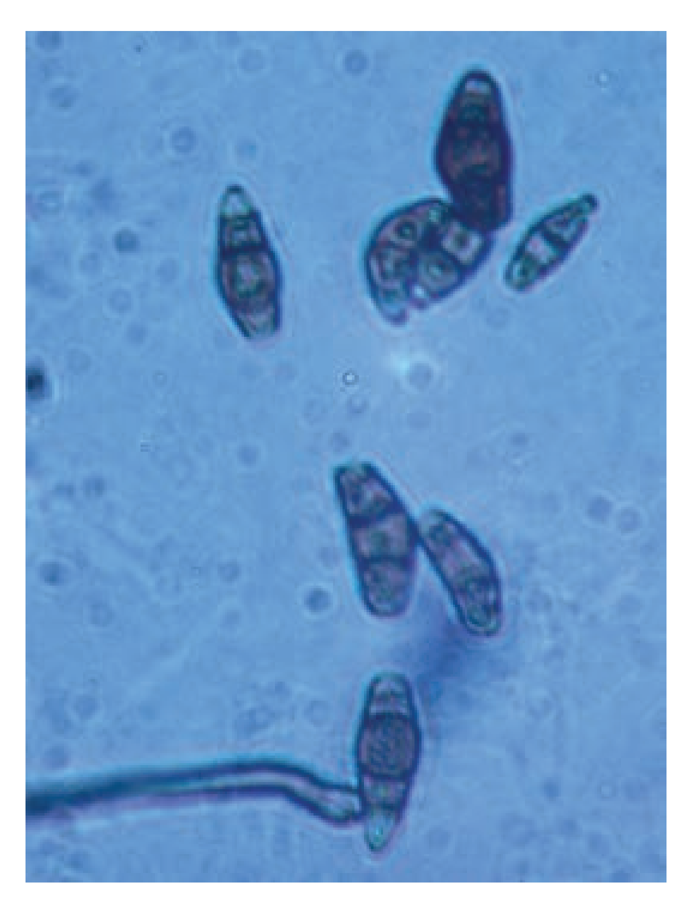


FIGURA 45-8 *Curvularia.* Es un hongo dematiáceo que produce los característicos macroconidios curvos que tienen grandes células centrales, peculiares. 400×.

dios y, en el caso de los cigomicetos, las **esporangiosporas**. Características orientadoras propias de las esporas son su ontogenia (algunos mohos producen estructuras conidiógenas complejas), y su morfología (tamaño, contorno, textura, color, y carácter unicelular o multicelular). En el caso de algunos hongos, las células vegetativas pueden transformarse en conidios (como serían los artroconidios, o las clamidosporas). En otros casos, los conidios son producidos por una célula conidiógena como una fiálide que por sí misma puede unirse a una hifa especializada, llamada conidióforo. En los cigomicetos, las esporangiosporas surgen por replicación mitótica y producción de la espora dentro de una estructura sacular llamada esporangio, apoyada por un esporangióforo.

Clasificación

Los hongos se clasifican en cuatro filos: Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota y Basidiomycota. El filo más numeroso es el de Ascomycota (o ascomicetos) que incluyen más del 60% de los hongos conocidos y, en promedio, 85% de los patógenos para humanos. Los demás hongos patógenos son los cigomicetos o basidiomicetos. La asignación de una especie de hongo a un filo, y también a una clase, orden y familia apropiados se basa en su mecanismo de reproducción sexual, propiedades fenotípicas (morfología y funcionamiento o aspectos fisiológicos) y relaciones filogenéticas; estos últimos métodos se utilizan para clasificar las especies anamórficas o asexuales. De manera típica, la reproducción sexual surge cuando cepas compatibles (para la unión o cruzamiento) de una especie son estimuladas por feromonas y experimentan plasmogamia, fusión nuclear y meiosis y, como consecuencia, hay intercambio de información genética. Los microorganismos asexuales y sus esporas se reproducen por clonas. Se han asignado nombres diferentes a muchas especies, lo cual refleja mecanismos de reproducción sexual (teleomórficos) y asexual (anamórficos).

A. Zygomycota (cigomicetos)

La reproducción sexual da como resultado una cigospora; la sexual se da por medio de esporangios. Las hifas vegetativas tienen tabiques escasos. **Ejemplos:** *Rhizopus, Absidia, Mucor, Cunninghamella, Pilobolus.*

B. Ascomycota (ascomicetos)

Para la reproducción sexual se necesita de un saco o asca en el cual se produce la cariogamia y la meiosis, con la generación de ascosporas. La reproducción asexual se hace por medio de conidios. Los mohos tienen hifas tabicadas. **Ejemplos:** casi todas las levaduras (*Saccharomyces, Candida*) y los mohos (*Coccidioides, Blastomyces, Trichophyton*).

C. Basidiomycota (basidiomicetos)

La reproducción sexual genera cuatro basidiosporas hijas, apoyadas por un basidio en forma de clava. Las hifas poseen septos complejos. **Ejemplos:** setas, *Cryptococcus.*

PROLIFERACIÓN Y AISLAMIENTO DE HONGOS

Muchos hongos viven en la naturaleza y proliferan fácilmente si tienen una fuente sencilla de nitrógeno y carbohidratos. El medio tradicional en micología, el agar de Sabouraud, que contiene glucosa y peptona modificada (pH 7.0), se ha usado porque no permite la proliferación de bacterias. Las características morfológicas de los hongos que se usan para identificarlos, se describieron a partir de su proliferación en agar de Sabouraud. Sin embargo, otros medios como el agar inhibidor (para hongos) han facilitado la proliferación de hongos y su detección en muestras de seres humanos. Para cultivar hongos importantes en medicina, a partir de muestras no estériles, se agregan a los medios antibióticos antibacterianos (como la gentamicina y el cloranfenicol) y la cicloheximida, para inhibir bacterias y mohos saprófitos, respectivamente. En el capítulo 47 se exponen las muestras utilizadas para aislar hongos, y otros medios usados para su aislamiento.

MICOSIS SUPERFICIALES

Pitiriasis versicolor

La entidad mencionada es una infección superficial, de poca intensidad y crónica del estrato córneo causada por *Malassezia globosa, M. restricta* y otros miembros del complejo de *M. furfur*. Son mínimas la invasión de la capa córnea de la piel y la respuesta del hospedador. En la piel se observan máculas circunscritas, serpentinas, hiperpigmentadas o hipopigmentadas, por lo común en el tórax, la mitad superior del dorso, los brazos y el abdomen. Las lesiones son crónicas y aparecen en la forma de máculas (manchas cutáneas) que pueden agrandarse y coalescer, pero son mínimas la exfoliación, la inflamación y la irritación. Por ello, este trastorno frecuente es más bien de tipo estético.

Las especies de *Malassezia* son levaduras lipófilas y muchas necesitan lípido en el medio del cultivo para proliferar. El diagnóstico se confirma por el estudio microscópico directo de raspaduras de la piel infectada, tratadas con hidróxido de potasio al 10 a 20% y teñidas con calcoflúor blanco. Se observan hifas cortas no ramificadas y células esféricas. Las lesiones también muestran fluorescencia con la lámpara de Wood. El trastorno es tratado con la aplicación diaria de sulfuro de selenio. Los azoles tópicos o ingeridos también son eficaces. En contadas ocasiones *Malassezia* puede causar fungemia de tipo oportunista en enfermos (por lo común lactantes) sometidos a nutrición parenteral total, como consecuencia de contaminación de la emulsión lípida. En muchos casos, la fungemia es transitoria y se corrige al cambiar la solución y el catéter intravenoso. Algunas personas terminan por mostrar foliculitis causada por *Malassezia*. Se considera que algunas especies de *Malassezia* son parte de la flora microbiana y pueden identificarse en la piel y piel cabelluda normales. Se les ha achacado ser causa de dermatitis seborreica o factor contribuyente o caspa. La hipótesis en cuestión ha sido reforzada por la observación de que muchos pacientes se han aliviado con el tratamiento a base de cetoconazol.

Tiña negra

El trastorno en cuestión (o tiña negra palmar) es una infección crónica superficial y asintomática del estrato córneo, causada por el hongo dematiáceo *Hortaea (Exophiala) werneckii*. El trastorno prevalece más bien en regiones costeras cálidas y en mujeres jóvenes. El aspecto de la lesión es el de una mancha oscura (parda o negra), a menudo en la palma. En el estudio microscópico de raspadura de la piel obtenida en la periferia de la lesión se observarán hifas ramificadas tabicadas y levaduras en gemación con paredes melanizadas. La tiña negra mejorará con soluciones queratolíticas y ácido salicílico o antimicóticos azólicos.

Piedra

La piedra negra es una infección nodular del tallo capilar causada por *Piedraia hortai* (fig. 45-9B). La piedra blanca por infección con especies de *Trichosporon* asume inicialmente la forma de nódulos amarillentos, más blandos y mayores de los cabellos (fig. 45-9A). La piedra puede infectar el cabello y el vello axilar y púbico, la barba y la piel cabelluda. El tratamiento de ambos tipos comprende la eliminación del cabello y la aplicación de un antimicótico. La piedra es endémica en países tropicales subdesarrollados.

MICOSIS CUTÁNEAS

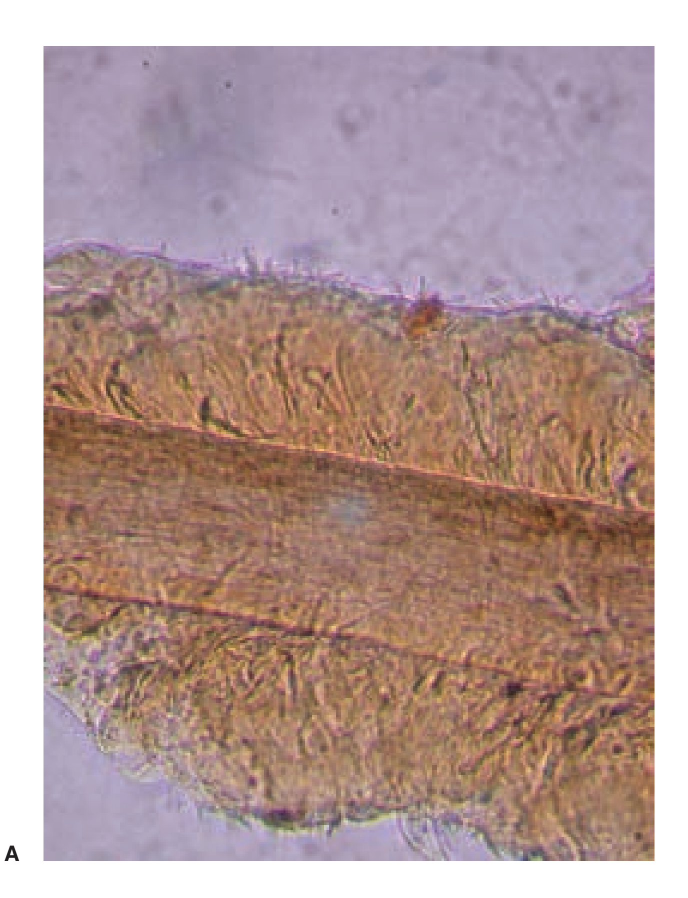
Dermatofitosis

Las micosis cutáneas son causadas por hongos que infectan únicamente los tejidos queratinizados superficiales (piel, cabello y uñas). Los hongos más importantes son los dermatofitos que incluyen unos 40 hongos similares que pertenecen a tres géneros: *Microsporum, Trichophyton* y *Epidermophyton*. Los dermatofitos probablemente se circunscriben a la piel no viable, porque no proliferan a 37°C o en presencia de suero. Las dermatofitosis constituyen algunas de las infecciones más prevalentes en el mundo. Pueden ser persistentes y molestas, pero no son debilitantes ni letales, aunque, aún así, cada año se gastan millones de dólares en su tratamiento. Las infecciones por dermatofitos o tiñas, por ser superficiales, fueron identificadas desde la antigüedad. En la piel se les diagnostica por la presencia de hifas ramificadas, tabicadas e hialinas o cadenas de artroconidios. En cultivos, las innumerables especies guardan íntima semejanza y por ello es difícil identificarlas. Se les clasifica en especies con base en sutiles diferencias del aspecto de sus colonias, su morfología microscópica y su requerimiento de algunas vitaminas. A pesar de sus semejanzas morfológicas, exigencias nutricionales, antígenos de superficie y otras características, muchas especies han generado queratinasas, elastasas y otras enzimas que les permiten ser específicas de hospedadores. En algunas especies de dermatofitos se ha descubierto una etapa reproductiva sexual, y todos los dermatofitos con reproducción sexual producen ascosporas y pertenecen al género teleomórfico *Arthroderma*.

Los dermatofitos se clasifican en geófilos, zoófilos o antropófilos, con base en su hábitat usual, que comprende la tierra, los animales o los seres humanos. Algunos dermatofitos que viven normalmente en el suelo o afectan a determinada especie animal pueden causar infecciones en seres humanos. En términos generales, conforme la especie evoluciona y cambia de residencia terrestre a un animal o un hospedador humano específico, pierde su capacidad de producir conidios asexuales y reproducirse sexualmente. Las especies antropófilas que ocasionan el mayor

número de infecciones en seres humanos causan dichos cuadros crónicos y relativamente benignos en personas, producen pocos conidios en el cultivo y a veces son difíciles de erradicar. Por lo contrario, los dermatofitos geófilos y zoófilos que están menos adaptados a hospedadores humanos, producen infecciones inflamatorias más agudas cuya resolución tiende a ser más rápida. Los dermatofitos se adquieren por contacto con tierra contaminada o con animales o seres humanos infectados.

Algunas especies antropófilas muestran circunscripción geográfica, pero otras como *Epidermophyton floccosum, Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale, T. rubrum* y *T. tonsurans* muestran distribución global. La especie zoófila más frecuente que origina infecciones en seres humanos es *Microsporum gypseum.* Entre las especies zoófilas cosmopolitas (y sus hospedadores naturales) están *Microsporum canis* (perros y gatos), *Microsporum gallinae* (aves de corral), *Microsporum nanum* (cerdos), *Trichophyton equinum* (caballos) y *Trichophyton verrucosum* (ganado bovino).



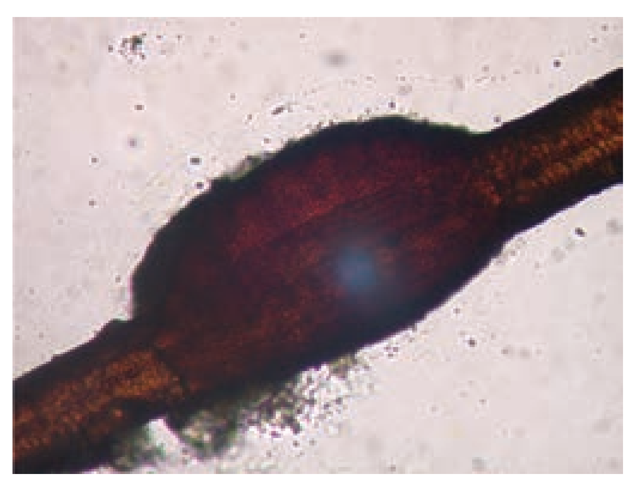


FIGURA 45-9 Piedra. **A:** Cabello con piedra blanca y un nódulo causado por la proliferación de *Trichosporon.* 200×. **B:** Cabello con piedra negra y un nódulo duro y negro causado por proliferación del hongo dematiáceo *Hortaea werneckii.* 200×.

Morfología e identificación

Los dermatofitos se identifican por el aspecto de sus colonias y su morfología microscópica después de proliferar durante dos semanas a 25°C en agar de Sabouraud. Especies de *Trichophyton* pueden infectar cabello, piel o uñas, y generar macroconidios cilíndricos de pared lisa y microconidios característicos (fig. 45-10A). Según la variedad, las colonias de *T. mentagrophytes* pueden ser cotonosas o granulosas; en ambos tipos se observan abundantes cúmulos, similares a uvas, de microconidios esféricos en ramas terminales. En los microorganismos primarios aislados suelen identificarse hifas en espiral. La típica colonia de *T. rubrum* tiene una superficie blanca algodonosa y un pigmento rojo intenso, no difusible, cuando se le observa desde la cara trasera de la colonia. Los microconidios son pequeños y piriformes. *T. tonsurans* produce una colonia plana, polvorienta o aterciopelada en la cara anterior, que se torna rojiza o más bien parda en la cara contraria; los microconidios son predominantemente alargados (fig. 45-10A).

Algunas especies de *Microsporum* tienden a producir macroconidios característicos multicelulares con paredes equinuladas (fig. 45-10B). Ambos tipos de conidios aparecen solos (únicos) en dichos géneros. *M. canis* forma una colonia con una superficie algodonosa blanca y en el lado contrario con un color amarillo intenso; los macroconidios de pared gruesa, de 8 a 15 células, a menudo tienen extremos curvos o en gancho. *M. gypseum* produce una colonia "bronceada" polvorienta y abundan en ella macroconidios de cuatro a seis células y pared fina. Las especies de *Microsporum* afectan solamente cabello y piel.

Epidermophyton floccosum, que constituye el único patógeno dentro del género, produce sólo macroconidios que tienen cúmulos pequeños y formes de pared lisa, en forma de clava, de dos a cuatro células (fig. 45-10C). Las colonias por lo común son planas y aterciopeladas, en un color bronceado o verde oliva. *E. floccosum* infecta la piel y las uñas, pero no el cabello.

Además de sus aspectos morfológicos macroscópicos y microscópicos, para diferenciar algunas especies son útiles algunos estudios nutricionales o de otro tipo como la proliferación a 37°C o un método para la perforación *in vitro* de cabello.

Epidemiología e inmunidad

Las infecciones por dermatofitos comienzan en la piel después de traumatismos y de contactos. Hay pruebas de que la susceptibilidad del hospedador puede identificarse por elementos como humedad, calor, propiedades químicas específicas de la piel, composición del sebo y sudor, juventud, exposición intensa y predisposición genética. La incidencia del trastorno es mayor en climas húmedos y calientes y en personas que viven en hacinamiento. El uso de calzado hace que los pies estén calientes

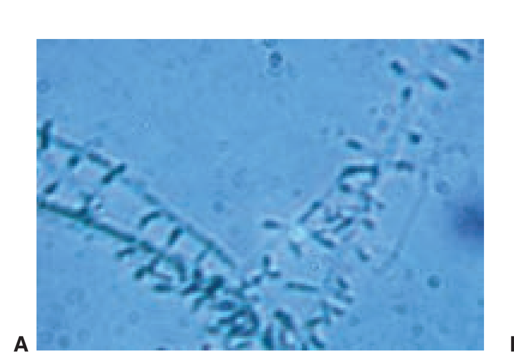






FIGURA 45-10 Ejemplos de tres géneros de dermatofitos. **A:** *Trichophyton tonsurans* se caracteriza por la generación de microconidios alargados, unidos a una hifa de sostén. **B:** *Microsporum gypseum* produce macroconidios individuales de paredes finas y también ásperas. **C:** *Epidermophyton floccosum* tiene macroconidios en forma de clava y paredes finas y lisas que se disponen típicamente en pequeños cúmulos.

y húmedos y prepara el terreno para infecciones de este tipo. La infección se origina en la tierra o en un animal infectado, en el caso de dermatofitos geófilos o zoófilos, respectivamente. Los conidios pueden permanecer viables por largo tiempo. Las especies antropófilas pueden ser transmitidas por contacto directo o a través de objetos inanimados como toallas contaminadas, ropas, regaderas compartidas y objetos similares.

La **tricofitina** es un preparado antigénico sin refinar (crudo) que puede utilizarse para detectar la hipersensibilidad de tipo inmediato o tardío a antígenos dermatofíticos. Muchas personas que terminan por mostrar infecciones crónicas no inflamatorias por dermatofitos tienen respuestas inmunitarias de tipo celular insatisfactorias respecto al antígeno de dermatofitos. Los pacientes con tales características suelen mostrar atopia y presentan hipersensibilidad de tipo inmediato y mayores concentraciones de IgE. En el hospedador normal, la duración y el grado de la inmunidad a la dermatofitosis dependen del hospedador, el sitio y la especie de hongo que causó la infección.

Manifestaciones clínicas

Las infecciones por dermatofitos fueron calificadas erróneamente de tiña porque eran circulares y elevadas. La clasificación clínica de las formas se basa en el sitio de ataque. Una sola especie puede ocasionar varios tipos de infecciones en seres humanos. Por lo contrario, una sola forma de la enfermedad como la tiña del cuerpo puede ser causada por varias especies de dermatofitos. En el cuadro 45-2 se incluyen los agentes que con mayor frecuencia originan formas clínicas particulares. En contadas ocasiones los sujetos inmunodeficientes pueden mostrar la infección a nivel general, producida por un dermatofito.

A. Tiña de los pies (pie de atleta)

La tiña en cuestión es la más frecuente de todas las dermatofitosis, y se manifiesta por un ataque crónico de los espacios interdigitales de los pies. Otras variedades son la vesiculosa, la ulcerada y la de mocasín con hiperqueratosis de la planta. En el comienzo surge prurito entre uno y otro dedos y también vesículas pequeñas que se rompen y de ellas mana un líquido acuoso. La piel del espacio interdigital muestra maceración y se descama, y con ello aparecen grietas en las que fácilmente se asientan infecciones bacterianas secundarias. Cuando la micosis se torna crónica, las manifestaciones principales son el despellejamiento y las grietas de la piel, acompañadas de dolor y prurito.

B. Tiña de las uñas (onicomicosis)

La infección de las uñas puede surgir después del ataque duradero de la tiña de los pies. Con la invasión de hifas las uñas se tornan amarillas, frágiles, engrosadas y se desintegran fácilmente. El ataque puede abarcar una uña o más de los dedos de pies o manos.

C. Tiña del cuerpo, de la ingle y de las manos

La dermatofitosis de la piel lampiña por lo común origina las lesiones anulares de la tiña, en que hay un centro claro y exfoliativo, rodeado de un borde enrojecido cada vez más amplio que puede ser seco o vesiculoso. El dermatofito prolifera solamente en tejido muerto y queratinizado, pero los metabolitos, enzimas y antígenos del hongo se difunden por las capas viables de la epidermis y ocasionan eritema, vesículas y prurito. Las infecciones por dermatofitos geófilos y zoófilos producen sustancias más irritantes y son más inflamatorias que las especies antropófilas. Conforme pasa el tiempo las hifas suelen formar cadenas de artroconidios. Las lesiones se expanden en forma centrífuga y hay proliferación activa de las hifas en la periferia, que es la región más frecuente en la cual se puede obtener material idóneo para el diagnóstico. La penetración del estrato córneo recién formado de las superficies plantares y palmares gruesas explica la persistencia de las infecciones en tales zonas.

Cuando la infección se sitúa en la ingle, recibe el nombre de tiña de la ingle. Muchos de estos trastornos afectan varones y el cuadro inicial es de lesiones secas, pruriginosas que suelen comenzar en el escroto y se propagan a la ingle. La tiña de las manos denota la que afecta esa zona o los dedos. Las lesiones secas exfoliativas pueden abarcar una o ambas manos, dedos aislados o dos o más de ellos.

CUADRO 45-2 Algunas manifestaciones clínicas de las dermatofitosis

Enfermedad cutánea	Sitio de las lesiones	Características clínicas	Hongos que suelen ser los patógenos
Tiña del cuerpo	Piel lampiña sin cabello	Manchas circulares con borde vesiculado, rojo, que se expande y escamas centrales. Cuadro prurítico	*Trichophyton rubrum, Epidermophyton floccosum*
Tiña de los pies (pie de atleta)	Espacios interdigitales de los pies en personas que usan calzado	Cuadro agudo: prurítico con vesículas rojas. Crónico: prurítico con escamas y grietas	*Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes, Epidermophyton floccosum*
Tiña de la ingle	Ingle	Lesión exfoliativa eritematosa en un área intertriginosa. Cuadro prurítico	*Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes, Epidermophyton floccosum*
Tiña de la cabeza	Cabello de la cabeza. Endotrix: el hongo está en el interior del tallo capilar. Ectotrix: el hongo está en la superficie del cabello	Manchas circulares con muñones cortos de cabello o cabello roto dentro de los folículos, rara vez hay querion. Los cabellos infectados por *Microsporum* emiten fluorescencia	*Trichophyton mentagrophytes, Microsporum canis*
Tiña de la barba	Pelos de la barba	Lesión edematosa y eritematosa	*Trichophyton mentagrophytes*
Tiña de las uñas (onicomicosis)	Uñas	Las uñas se engruesan o se rompen en sentido distal; uñas manchadas y opacas. Suele acompañar a la tiña de los pies	*Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes, Epidermophyton floccosum*
Dermatofítide (reacción de inmunodifusión)	Por lo común los lados y caras flexoras de los dedos de las manos. Palma. Cualquier sitio corporal	Lesiones vesiculosas pruríticas o ampollosas. A menudo acompaña a la tiña de los pies	En la lesión no se identifican hongos; puede mostrar infección secundaria por bacterias

D. Tiña de la cabeza y de la barba

La primera entidad es la dermatofitosis de la piel cabelluda y el cabello. La infección comienza cuando las hifas invaden la piel de la cabeza y más adelante se propagan en la pared queratinizada del folículo piloso. La infección del cabello se sitúa exactamente por arriba de su raíz. Las hifas proliferan en sentido descendente en la porción inerte del cabello, con la misma rapidez con que éste crece hacia arriba. El trastorno hace que surjan zonas circulares de color gris pálido, de alopecia, exfoliación y prurito. Conforme el cabello sale del folículo las hifas de la especie *Microsporum* producen una cadena de esporas que forman una vaina alrededor del tallo piloso (ectotrix); dichas esporas dan al cabello una fluorescencia verdosa o plateada cuando se les estudia con la luz de Wood (365 nm). A diferencia de ello, *T. tonsurans,* que es la causa principal de la tiña por “puntos negros” produce esporas en el interior del tallo piloso (endotrix). Los cabellos no emiten fluorescencia, están debilitados y se rompen fácilmente en el orificio folicular. En niños prepúberes, la tiña epidérmica de la cabeza por lo común cede por sí sola.

Las especies zoófilas pueden inducir una reacción combinada inflamatoria y de hipersensibilidad intensa llamada **querion.** Otra manifestación de la tiña del cabello es el favo, con infección inflamatoria aguda del folículo piloso causada por *T. schoenleinii,* que hace que se formen costras alrededor del folículo. En los cabellos atacados por el favo, las hifas no forman esporas, pero pueden identificarse en el tallo capilar. La tiña de la barba, como su nombre lo señala, afecta esta zona del cuerpo. En particular cuando participa un dermatofito zoófito puede surgir una reacción fuertemente inflamatoria que se asemeja netamente a una infección piógena.

E. Reacción tricofítide

En el curso de la dermatofitosis la persona puede mostrar hipersensibilidad a los constituyentes o los productos del hongo y presentar manifestaciones alérgicas, llamadas dermatofítides (por lo común vesículas) en cualquier zona del cuerpo, más a menudo en las manos. La cutirreacción con tricofitina es fuertemente positiva en tales enfermos.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras comprenden raspaduras de la piel y las uñas, además de cabellos arrancados de zonas afectadas. Las esporas de ectotrix de cabellos infectados por *Microsporum* emiten fluorescencia con la luz de Wood en una estancia oscurecida.

B. Examen microscópico

Las muestras se colocan en una laminilla y se agrega una gota de hidróxido de potasio al 10 a 20% con calcoflúor blanco (o sin él), un colorante inespecífico de la pared del hongo, y se revisa con un microscopio de fluorescencia. Se agrega un cubreobjetos y la muestra se revisa inmediatamente y se repite la exploración después de 20 min. En la piel o las uñas, sea cual sea la especie infectante, se identifican hifas ramificadas o cadenas de artroconidios (artrosporas). En los cabellos, muchas especies de *Microsporum* forman vainas densas de esporas alrededor del cabello (ectotrix). *T. tonsurans* y *T. violaceum* tienen como característica propia producir artroconidios dentro del tallo capilar (endotrix).

C. Cultivo

Para identificar la especie de un dermatofito se necesita el cultivo. Las muestras son inoculadas en agar inhibidor (de mohos) o el agar inclinado de Sabouraud que contiene cicloheximida y cloranfenicol para suprimir la proliferación de mohos y bacterias; se incuba durante una a tres semanas a temperatura ambiental y, si es necesario, se hacen nuevas revisiones en los cultivos con laminilla. La especie se identifica con base en la morfología de la colonia (rapidez de proliferación, contextura de la superficie y cualquier pigmentación); la morfología microscópica (macroconidios, microconidios), y en algunos casos las necesidades nutricionales de los hongos.

Tratamiento

La terapia comprende la eliminación completa de las estructuras epiteliales infectadas y muertas y la aplicación de un antimicótico o un antibiótico tópicos. Para evitar la nueva infección de la zona es importante conservarla seca e impedir el contacto con medios infectados, como una mascota, u objetos personales de baño ajenos.

A. Tiña de la cabeza

Las infecciones de la piel cabelluda se tratan con la ingestión de griseofulvina o terbinafina durante varias semanas. Los champús y la crema de miconazol y otros antimicóticos tópicos pueden ser eficaces si se utilizan durante semanas. Otros fármacos por emplear son el cetoconazol y el itraconazol, y son muy eficaces.

B. Tiñas del cuerpo, de los pies e infecciones similares

En estos casos los fármacos más eficaces son el itraconazol y la terbinafina. Sin embargo, cabe recurrir a diversos preparados tópicos como el nitrato de miconazol, el tolnaftato y el clotrimazol. Si tales fármacos se aplican durante dos a cuatro semanas, como mínimo, los índices de curación por lo regular son de 70 a 100 por ciento. El tratamiento debe continuarse durante una a dos semanas después que las lesiones han cedido. En casos difíciles cabe recurrir a la ingestión de griseofulvina por un lapso breve.

C. Tiña de las uñas

Las infecciones de las uñas son las más difíciles de tratar y para ello se necesita ingerir durante varios meses itraconazol o terbinafina, y también la extracción quirúrgica de la uña. Son frecuentes las recidivas.

MICOSIS SUBCUTÁNEAS

Los hongos que ocasionan micosis subcutáneas viven normalmente en la tierra o en la vegetación. Penetran en la piel o en tejido subcutáneo por inoculación traumática, con el material contaminado. En términos generales, las lesiones se tornan granulomatosas y se expanden poco a poco desde el punto de implantación. La extensión a través de los linfáticos que drenan la lesión es lenta, salvo en la esporotricosis. Las micosis comentadas por lo común se circunscriben a los tejidos subcutáneos, pero en casos raros pueden generalizarse y producir una enfermedad que puede ser letal.

ESPOROTRICOSIS

Sporothrix schenckii es un hongo térmicamente dimórfico que vive en la vegetación. Reside en diversas plantas, como las hierbas, los árboles, el líquido de pantanos, rosales y otros ejemplares hortícolas. A temperatura ambiental prolifera con la forma de un moho y produce hifas tabicadas y ramificadas y conidios, y en tejido o en un medio *in vitro* a 35 a 37°C, una levadura con pequeñas yemas. *S. schenckii,* después de su introducción traumática en la piel origina **esporotricosis**, que es una lesión granulomatosa crónica. En forma típica, después del primer episodio sigue la propagación secundaria con ataque de vasos linfáticos que drenan la zona y ganglios linfáticos.

Morfología e identificación

S. schenckii prolifera satisfactoriamente en los medios corrientes de agar; a temperatura del ambiente las colonias jóvenes son negruzcas y brillosas y más adelante al envejecer tienen arrugas y contornos poco precisos. La pigmentación de las cepas varía desde varios tonos de negro y gris hasta un color blanquecino. El microorganismo produce hifas tabicadas y ramificadas y conidios pequeños característicos (3 a 5 μm), concentrados delicadamente en los extremos ahusados de los conidióforos. Los microorganismos también pueden formar conidios de mayor tamaño, directamente desde las hifas. *S. schenckii* es térmicamente dimórfico y a 35°C en un medio muy nutritivo se transforma y reproduce en levaduras pequeñas, a menudo multigemantes de forma variable, pero frecuentemente fusiformes (de 1 a 3 × 3 a 10 μm) como se muestra en la figura 45-11.

Estructura antigénica

Las suspensiones salinas de hongos destruidos por calor, obtenidos de cultivos o sus fracciones de carbohidrato (esporotriquina) desencadenarán positividad en las cutirreacciones tardías en humanos o animales infectados. Se han creado diversos métodos serológicos y muchos pacientes, así como algunos sujetos normales, muestran anticuerpos específicos o con reactividad cruzada.

Patogenia y manifestaciones clínicas

Los conidios o fragmentos de hifas de *S. schenckii* son introducidos en forma traumática en la piel. El enfermo suele recordar el antecedente de un traumatismo durante actividades al aire libre y el contacto con plantas. La lesión inicial suele estar en las extremidades, pero puede situarse en cualquier zona (los niños suelen tener lesiones en la cara como manifestación inicial). En promedio, 75% de los casos son linfocutáneos, es decir, la lesión inicial asume la forma de un nódulo granulomatoso que a veces evoluciona hasta formar una lesión necrótica o ulcerada. Mientras tanto, los vasos linfáticos que drenan las zonas se engruesan y tienen contextura firme. En el trayecto de los linfáticos se producen múltiples nódulos subcutáneos y abscesos.

La esporotricosis fija incluye un solo nódulo no linfangítico, circunscrito y menos progresivo. La lesión fija es más común en áreas endémicas como en México, en que hay una exposición importante e inmunidad en la población. La inmunidad frena la propagación local y la infección.

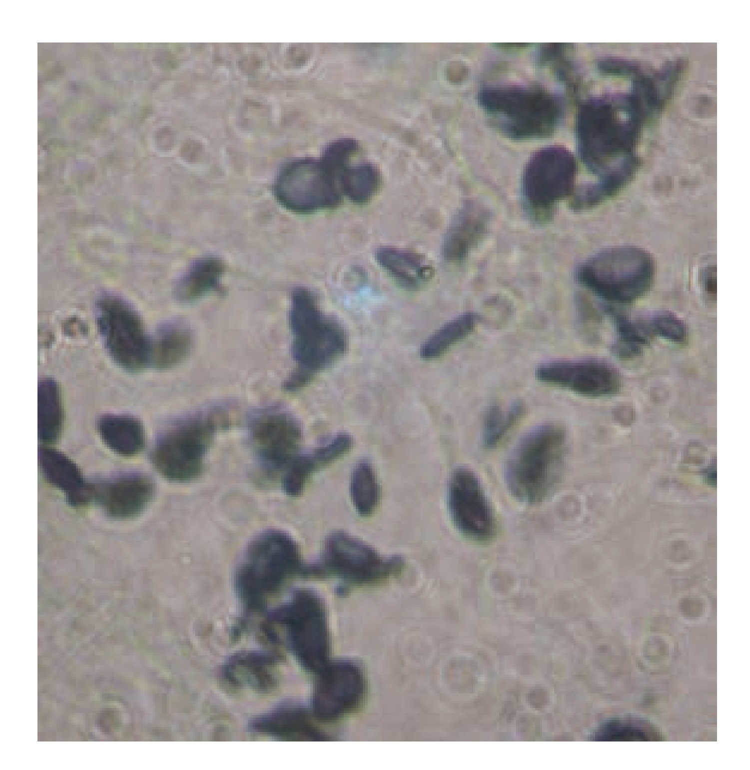


FIGURA 45-11 Esporotricosis. En el tejido cutáneo se observan levaduras esféricas pequeñas y alargadas gemantes (3 a 5 μm) de *Sporothrix schenckii* que captaron el color negro mediante el colorante de metenamina argéntica de Gomori (GMS). 400×.

Con las lesiones mencionadas por lo común surge un cuadro generalizado mínimo, pero a veces hay diseminación, en particular, en pacientes debilitados. En contadas ocasiones la esporotricosis pulmonar primaria es consecuencia de la inhalación de los conidios; dicha manifestación remeda a la tuberculosis cavitada crónica y tiende a aparecer en sujetos con deficiencia de la inmunidad de tipo celular.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras comprenden material de biopsia o exudado de lesiones granulosas o ulcerosas.

B. Examen microscópico

Las muestras se pueden examinar directamente con hidróxido de potasio o calcoflúor blanco, pero rara vez se identifican levaduras. A pesar de que su número sea pequeño en los tejidos, la sensibilidad de los cortes histopatológicos aumenta con las tinciones corrientes para paredes de hongos como la metenamina argéntica de Gomori, que imparte color negro a dichas paredes, o el ácido peryódico de Schiff, que da un color rojo a dichas estructuras. Como otra posibilidad, se les identifica con la tinción de anticuerpos fluorescentes. Las levaduras tienen 3 a 5 μm de diámetro y son esféricas o alargadas.

En los tejidos se observa a menudo otra estructura que ha sido llamada cuerpo asteroide, particularmente en zonas endémicas como México, África del sur y Japón. En el tejido teñido con hematoxilina y eosina el cuerpo esteroide consiste en una levadura basófila central rodeada de extensiones radiadas de material eosinófilo, que son depósitos de complejos de antígeno-anticuerpo y complemento.

C. Cultivo

El método más fiable para el diagnóstico es el cultivo. El operador inocula las muestras en estrías en agar con alguna sustancia que inhibe la proliferación de mohos o de Sabouraud que contiene antibióticos bacterianos y las incuba a 25 a 30°C. La identificación se confirma por la proliferación de los microorganismos a 35°C y su transformación en levaduras.

D. Estudios serológicos

La aglutinación de suspensiones de levaduras o de partículas de látex cubiertas de antígeno se produce en título alto con los sueros de pacientes infectados pero no constituye un recurso diagnóstico.

Tratamiento

En algunos casos, la infección cede por sí sola. La ingestión de una solución saturada de yoduro de potasio en leche es muy eficaz, pero muchos pacientes no la toleran. El tratamiento más indicado es el itraconazol ingerible u otros azólicos. Si la enfermedad es generalizada se administra anfotericina B.

Epidemiología y control

S. schenckii está distribuido a nivel mundial, en íntima relación con plantas. Por ejemplo, se han vinculado algunos casos con el contacto del moho de los pantanos, rosales, madera en putrefacción, astillas de pino, hierbas de praderas y otros vegetales. En promedio, 75% de los casos afectaron a varones, por su mayor exposición o por una diferencia ligada a X en la susceptibilidad. La incidencia es mayor en trabajadores agrícolas y se considera que la esporotricosis es un riesgo ocupacional en cuidadores de bosques, horticultores y trabajadores que tienen ocupaciones similares. La prevención comprende medidas para llevar al mínimo la inoculación accidental, y también usar fungicidas, si así conviene, para tratar la madera. Los animales también son susceptibles a la esporotricosis.

CROMOBLASTOMICOSIS

La cromoblastomicosis (cromomicosis) es una micosis subcutánea causada por la inoculación traumática de alguno de los cinco hongos identificados que viven en la tierra y en la vegetación. Todos son dematiáceos y en sus paredes tienen melanina: *Phialophora verrucosa, Fonsecaea pedrosoi, Rhinocladiella aquaspersa, Fonsecaea compacta* y *Cladophialophora carrionii*. La infección es crónica y se caracteriza por lesiones granulomatosas de evolución lenta que con el tiempo inducen hiperplasia de tejidos epidérmicos.

Morfología e identificación

Los hongos dematiáceos tienen semejanza en su pigmentación, estructura antigénica, morfología y propiedades fisiológicas. Sus colonias son compactas de color pardo oscuro o negro y mues-

tran una superficie aterciopelada, a menudo con arrugas. Los agentes de la cromoblastomicosis se identifican por sus formas de generación de conidios. En los tejidos tienen un aspecto similar, con producción de células pardas esféricas (4 a 12 μm de diámetro), llamadas cuerpos muriformes o escleróticos, que se dividen por tabicación transversal. La tabicación en planos diferentes con retraso en la separación puede originar cúmulos de 4 a 8 células (fig. 45-12). Las células en las costras o exudados superficiales pueden germinar y dar origen a hifas ramificadas y tabicadas.

A. *Phialophora verrucosa*

Los conidios son producidos por fiálides en forma de redomas o floreros con collaretes en copa. De la fiálide salen conidios maduros, que son esféricos u ovales y por lo común se acumulan a su alrededor (fig. 45-13A).

B. *Cladophialophora (Cladosporium) carrionii*

Especies de *Cladophialophora* y *Cladosporium* producen cadenas ramificadas de conidios por gemación distal (acropétalos). El conidio terminal de una cadena origina el siguiente por un proceso de gemación. Las especies se identifican con base en sus diferencias en la longitud de las cadenas y en la forma y tamaño de los conidios. *C. carrionii* produce conidióforos alargados, con cadenas largas ramificadas de conidios ovales.

C. *Rhinocladiella aquaspersa*

La especie mencionada genera conidios laterales o terminales, de una célula conidiógena en alargamiento, que es una prolongación simpódica. Los conidios tienen forma elíptica o de clava.

D. *Fonsecaea pedrosoi*

Fonsecaea es un género polimórfico. Sus miembros pueden presentar: 1) fiálides; 2) cadenas de blastoconidios, signo similar al de las especies de *Cladosporium*, o 3) conidios simpódicos del tipo de la rinocladiela. Casi todas las cepas de *F. pedrosoi* forman cadenas ramificadas cortas de blastoconidios y también conidios simpódicos (fig. 45-13B).

E. *Fonsecaea compacta*

Los blastoconidios producidos por *F. compacta* son casi esféricos y tienen una base amplia que los conecta a los conidios. Las estructuras son de menor tamaño y más compactas que las de *F. pedrosoi*.

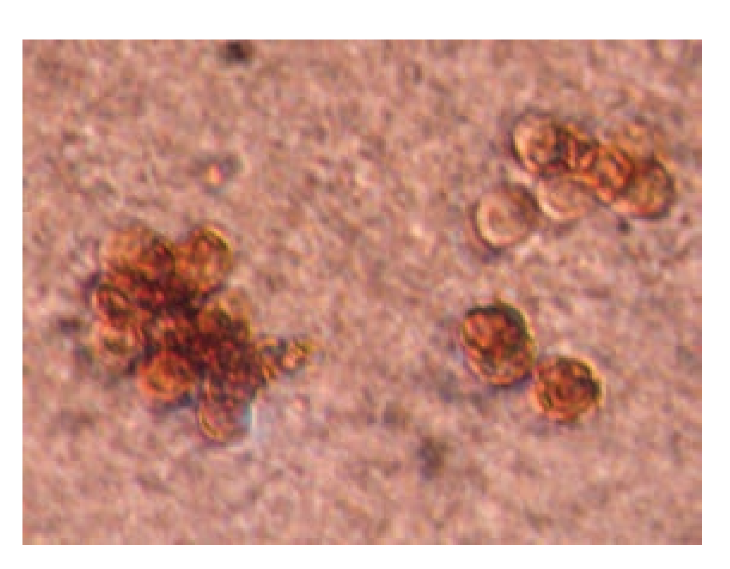
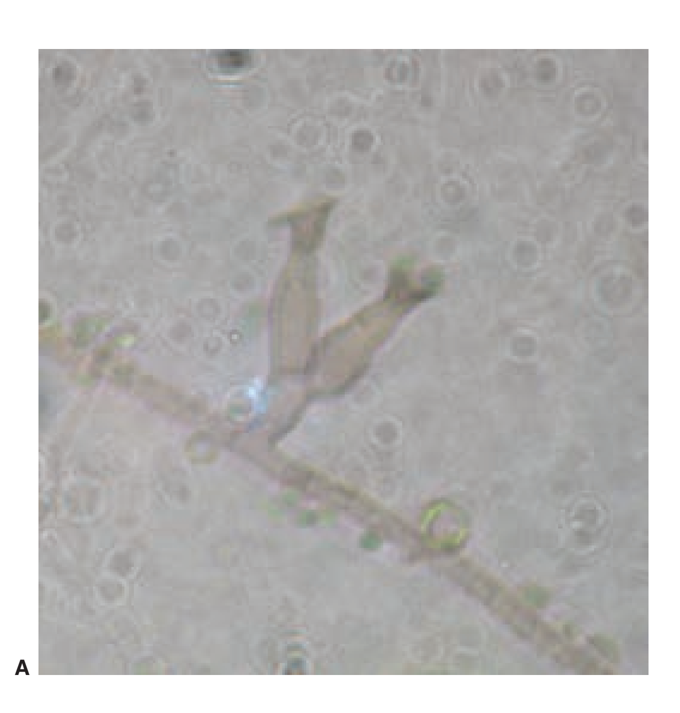


FIGURA 45-12 Cromomicosis. Se advierten en la biopsia de piel, con tinción de hematoxilina y eosina, las células escleróticas diagnósticas y melanizadas (4 a 12 μm de diámetro). 400×.



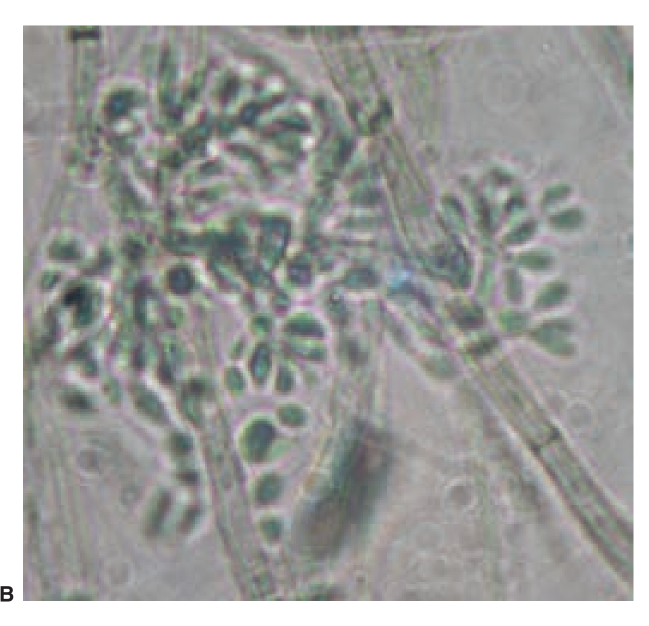


FIGURA 45-13 Conidios característicos producidos en cultivo de los dos agentes más comunes de la cromomicosis. **A:** *Phialophora verrucosa* produce conidios de estas fiálides en forma de vasija con collaretes. 1 000×. **B:** *Fonsecaea pedrosoi* por lo común presenta cadenas de blastoconidios de ramas cortas y otros tipos de conidiogénesis. 1 000×.

Patogenia y manifestaciones clínicas

Los hongos son introducidos en la piel por traumatismos, a menudo en las piernas o los pies al descubierto. Con el paso de meses o años, la lesión primaria se torna verrugosa y similar a una verruga, con extensión en los linfáticos que drenan la zona. Al final toda el área puede estar cubierta de nódulos en forma de coliflor con abscesos que tienen costra. En la superficie verrugosa se advierten úlceras pequeñas o "manchas negras" de material hemopurulento. En raras ocasiones surge elefantiasis por infección secundaria, obstrucción y fibrosis de los conductos linfáticos. Rara vez el trastorno se disemina a otras zonas corporales, aunque pueden aparecer lesiones satélite por la propagación a través de linfáticos locales o por autoinoculación. En la imagen histológica las lesiones son granulomatosas y se identifican a veces cuerpos escleróticos oscuros dentro de leucocitos o células gigantes.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Las muestras de raspaduras o fragmentos de tejido de las lesiones se colocan en hidróxido de potasio al 10% y se estudian microscópicamente en busca de células esféricas oscuras. La detección de los cuerpos escleróticos es un signo diagnóstico de la cromoblastomicosis, independientemente del agente etiológico. En los cortes de tejido se identifican granulomas e hiperplasia extensa del tejido dérmico.

Es necesario cultivar las muestras en agar con sustancias que inhiban la proliferación de mohos o agar de Sabouraud con antibióticos. La especie dematiácea se identifica por sus características y estructuras conidiales, como será descrito luego. Puede haber innumerables mohos dematiáceos saprófitos similares, pero difieren de la especie patógena en que no proliferan a 37°C y digieren la gelatina.

Tratamiento

El tratamiento más indicado en el caso de lesiones pequeñas es la extirpación quirúrgica, con bordes amplios. En el caso de lesiones de mayor tamaño puede ser eficaz la quimioterapia con flucitosina o itraconazol. El calor local es beneficioso y las recidivas son frecuentes.

Epidemiología

La cromoblastomicosis aparece más bien en los trópicos. Los hongos son saprófitos y probablemente aparecen en vegetales y en la tierra. La enfermedad afecta principalmente las piernas de trabajadores agrícolas descalzos, después de introducción traumática del hongo. El trastorno mencionado no es transmisible. Es probable que la infección se evite con el uso de calzado y protección de las piernas.

FEOHIFOMICOSIS

La feohifomicosis es el término que se aplica a infecciones caracterizadas por la presencia en los tejidos de hifas tabicadas con pigmentación oscura. Se han descrito las infecciones cutáneas y sistémicas. Las formas clínicas varían desde los quistes solitarios encapsulados en los tejidos subcutáneos, hasta la sinusitis y los abscesos cerebrales. Se han vinculado más de 100 especies de hongos dematiáceos con varios tipos de infecciones feohifomicóticas. Todos son hongos exógenos que normalmente existen en la Naturaleza. Algunos de los gérmenes que con mayor frecuencia producen feohifomicosis subcutánea son *Exophiala jeanselmei, Phialophora richardsiae, Bipolaris spicifera* y *Wangiella dermatitidis.* Las especies mencionadas y otras (como especies de *Exserohilum rostratum,* de *Alternaria* y de *Curvularia*) pueden ser causantes de la feohifomicosis sistémica. En años recientes han aumentado la incidencia de esta enfermedad y la lista de patógenos que la causan en sujetos inmunocompetentes y en los inmunodeficientes.

En los tejidos, las hifas son grandes (5 a 10 μm de diámetro), a menudo deformes, y pueden acompañarse de levaduras, pero es posible diferenciar tales estructuras de los otros hongos, por la presencia de melanina en sus paredes (fig. 45-14). Las muestras se cultivan en los medios corrientes para hongos y así se identifica el agente etiológico. En términos generales, para tratar la feohifomicosis subcutánea los fármacos más adecuados son itraconazol o flucitosina. Los abscesos cerebrales suelen ser mortales, pero si se les identifica, se pueden tratar con anfotericina B y cirugía. El microorganismo patógeno más común que causa la feohifomicosis cerebral es *Cladophialophora bantiana.*

MICETOMA

El micetoma es una infección subcutánea crónica inducida por la inoculación traumática de diversas especies de hongos saprófitos o bacterias actinomicetas que normalmente están en la tierra. Los signos clínicos que definen a un micetoma son hincha-

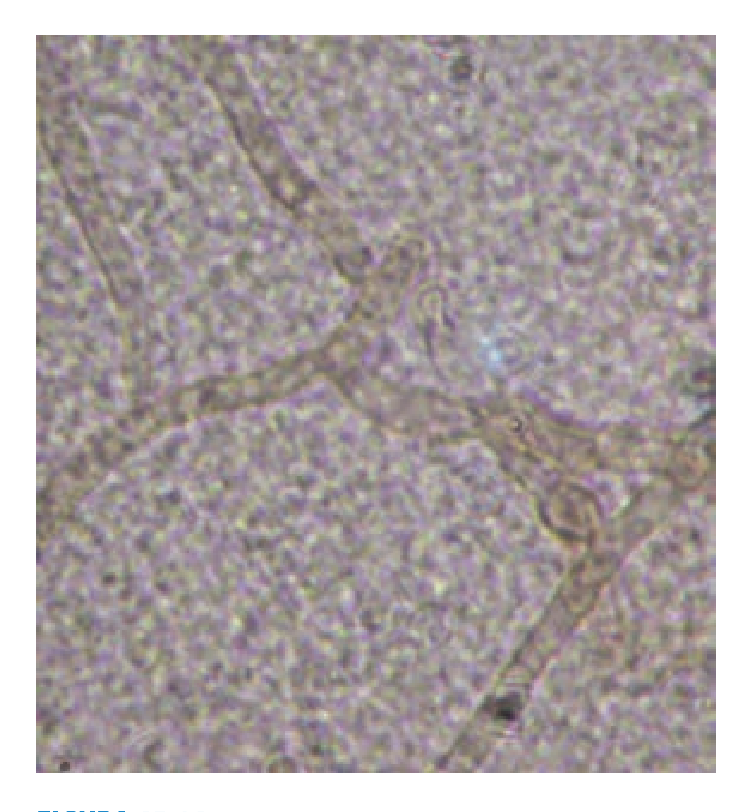


FIGURA 45-14 Feohifomicosis. En el tejido se observan hifas melanizadas. 400×.

zón local y fístulas interconectadas (a menudo húmedas) que contienen gránulos y son microcolonias del agente dentro de dicho material de tejido. Un **actinomicetoma** es un micetoma causado por un actinomiceto; un **eumicetoma** (maduromicosis o pie de Madura) es un micetoma causado por un hongo. El curso natural y los signos clínicos de ambos tipos de micetoma son similares, pero los actinomicetomas pueden ser más invasores y se propagan del tejido subcutáneo al músculo subyacente. Por supuesto, su tratamiento es diferente. La distribución del micetoma es mundial, pero aparece con mayor frecuencia en pueblos pobres, donde la gente anda descalza. Los micetomas aparecen de manera esporádica fuera de los trópicos y son particularmente prevalentes en India, África y América Latina. En el capítulo 12 se exponen en mayor detalle los actinomicetomas.

Morfología e identificación

Los hongos que causan el micetoma incluyen, entre otros, *Pseudallescheria boydii* (anamórfico, *Scedosporium apiospermum*), *Madurella mycetomatis, Madurella grisea, Exophiala jeanselmei* y *Acremonium falciforme.* En Estados Unidos, la especie que prevalece es *P. boydii* que es homotálico y es capaz de producir ascosporas en cultivo. *E. jeanselmei* y la especie *Madurella* son dematiáceos. Los mohos mencionados se identifican fundamentalmente por sus mecanismos de conidiación. *P. boydii* también puede ocasionar seudoalesqueriosis, infección generalizada en inmunodeficientes.

En los tejidos, el tamaño de los gránulos del micetoma puede llegar a 2 milímetros. El color del gránulo puede orientar respecto a la identidad del agente. Por ejemplo, los gránulos de micetoma causado por *P. boydii* y *A. falciforme* son blancos; los de *M. grisea* y *E. jeanselmei* son negros y *M. mycetomatis* produce gránulos rojos oscuros o negros. Las estructuras mencionadas son duras y contienen hifas septadas entremezcladas de 3 a 5 μm de ancho. Las hifas típicamente están deformes y agrandadas en la periferia del gránulo.

Patogenia y manifestaciones clínicas

El micetoma aparece después de la inoculación traumática con tierra contaminada con algunos de los agentes patógenos. El trastorno afecta con mayor frecuencia tejidos subcutáneos, de los pies, extremidades pélvicas, manos y zonas al descubierto. Sea cual sea el agente, el cuadro patológico se caracteriza por supuración y formación de absceso, granulomas y aparición de fístulas húmedas que contienen los gránulos; el trastorno puede propagarse a músculo y hueso vecino. Sin tratamiento, las lesiones persisten años y pueden abarcar zonas más profundas y periféricas, lo cual origina deformación y pérdida de la función.

En muy raras ocasiones *P. boydii* se disemina en un hospedador inmunodeficiente o produce infección de un cuerpo extraño (como un marcapasos cardiaco).

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Es posible separar los gránulos del pus o de material de biopsia para su estudio y cultivo en medios apropiados. Elementos útiles para identificar el agente causal son el color del gránulo, su textura y tamaño, así como la presencia de hifas hialinas o pigmentadas (o bacterias). Los micetomas húmedos a menudo muestran sobreinfección con estafilococos y estreptococos.

Tratamiento

El tratamiento del eumicetoma es difícil y comprende el desbridamiento o la extirpación quirúrgica y la farmacoterapia. La infección por *P. boydii* se trata con nistatina o miconazol tópicos. En el caso de infecciones por *Madurella* se recomienda usar itraconazol, cetoconazol e incluso anfotericina B, y en la infección por *E. jeanselmei*, usar flucitosina. Los agentes farmacológicos deben administrarse por periodos largos para que penetren adecuadamente en las lesiones.

Epidemiología y control

Los microorganismos que ocasionan el micetoma están en la tierra y en la vegetación. Por tal razón, están expuestos a ellos a menudo los trabajadores agrícolas descalzos. Medidas razonables de control son la limpieza apropiada de heridas y el uso de calzado.

MICOSIS ENDÉMICAS

Cada una de las cuatro micosis sistémicas primarias (dimórficas) como son coccidioidomicosis, histoplasmosis, blastomicosis y paracoccidioidomicosis, está circunscrita geográficamente a áreas específicas endémicas. Los hongos que causan coccidioidomicosis e histoplasmosis aparecen en la naturaleza en la tierra seca o en la que se mezcla con guano, respectivamente. Se supone que los agentes de la blastomicosis y de la paracoccidioidomicosis viven en la naturaleza, pero no se ha definido con claridad su hábitat. Las cuatro micosis son causadas por hongos dimórficos térmicamente, y muchas infecciones comienzan en los pulmones después de inhalar los conidios respectivos. Sólo unas cuantas infecciones culminan en un cuadro clínico de enfermedad, y puede abarcar la diseminación desde los pulmones a otros órganos. Con raras excepciones, las micosis mencionadas no son transmisibles entre humanos o en otros animales. El cuadro 45-3 resume y diferencia algunas de las características fundamentales de las micosis sistémicas o profundas.

En lo que respecta a todas las infecciones mencionadas, los macrófagos alveolares son los que inicialmente defienden al hospedador y ellos pueden inactivar los conidios e inducir una potente respuesta inmunitaria. El proceso culmina típicamente en la aparición de inflamación granulomatosa y la producción de inmunidad mediada por anticuerpos y por células. La inducción de las citocinas Th1 (como interleucina-12, interferón γ, o factor α de necrosis tumoral), reforzarán las defensas celulares, activarán macrófagos e intensificarán su capacidad fungicida. En un hospedador inmunocompetente las respuestas culminan en la resolución de las lesiones inflamatorias. Sin embargo, los granulomas residuales pueden tener microorganismos inactivos con la posibilidad de que más tarde se reactiven y ello constituya la forma latente de la enfermedad. En las áreas endémicas en que viven los hongos en cuestión, muchas infecciones aparecen en sujetos inmunocompetentes, pero están expuestos a un mayor riesgo de infección grave los individuos con deficiencia de su inmunidad celular como los pacientes infectados por VIH y los que tienen síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

CUADRO 45-3 Resumen de las micosis endémicas[a]

Micosis	Microorganismo patógeno	Aspectos ecológicos	Distribución geográfica	Forma tisular
Histoplasmosis	*Histoplasma capsulatum*	Hábitat de aves y murciélagos (guano), tierra alcalina	Global; endémica en los valles fluviales de Ohio, Missouri y Mississippi; África central (var. *duboisii*)	Levaduras ovales de 2 × 4 μm, dentro de los macrófagos
Coccidioidomicosis	*Coccidioides posadasii* o *Coccidioides immitis*	Suelo y roedores	Regiones semiáridas del suroeste de Estados Unidos, México y Centroamérica y Sudamérica	Esférulas de 10 a 80 μm, que contienen endosporas de 2 a 4 μm
Blastomicosis	*Blastomyces dermatitidis*	Se desconoce (¿márgenes de ríos?)	Valles fluviales de Mississippi, Ohio y San Lorenzo; sureste de Estados Unidos	Levadura de pared gruesa con base amplia por lo común de una sola yema, de 8 a 15 μm
Paracoccidioidomicosis	*Paracoccidioides brasiliensis*	Se desconoce (¿tierra?)	Centroamérica y Sudamérica	Grandes levaduras de múltiples yemas, de 15 a 30 μm

[a]Las cuatro micosis endémicas son causadas por hongos dimórficos que están en la naturaleza en la forma de mohos que producen hifas septadas hialinas y los conidios característicos. La infección se contagia al inhalar los conidios. Con excepción de la blastomicosis, las pruebas refuerzan la posibilidad de una gran frecuencia de infección dentro de áreas endémicas. Más de 90% de las infecciones se observan en personas inmunocompetentes, el 75 a 90% en varones y 60 a 95% son asintomáticas y ceden por sí solas o están en fase de latencia. La enfermedad sintomática aparece a menudo en personas inmunodeficientes, incluidas las infectadas por VIH/SIDA.

COCCIDIOIDOMICOSIS

Coccidioides posadasii y *C. immitis* son mohos terrestres prácticamente idénticos en su fenotipo, y causan **coccidioidomicosis**. La infección es endémica en regiones semiáridas perfectamente definidas del suroeste de Estados Unidos, y América del centro y del sur. El trastorno por lo común cede por sí solo; rara vez hay diseminación, pero siempre es grave y a veces mortal.

Morfología e identificación

Gracias a los análisis basados en DNA, en fecha reciente se identificó a *C. posadasii* como una especie propia y como causa frecuente de coccidioidomicosis. Sin embargo, es un microorganismo que no se identifica fácilmente en el laboratorio y sus manifestaciones clínicas son idénticas a las causadas por *C. immitis* o *C. posadasii*; por ambas causas, en este capítulo sólo se utilizará el nombre primario y más conocido de la especie.

En casi todos los medios de laboratorio *C. immitis* genera una colonia algodonosa de color blanco o bronceado. Las hifas forman cadenas de artroconidios (artrosporas) que a menudo terminan por producir células alternas de una hifa. Estas cadenas se fragmentan en artroconidios individuales que fácilmente viajan por el aire y son muy resistentes al entorno adverso (fig. 45-16A). Los pequeños artroconidios (3 × 6 μm) persisten viables durante años y son muy infectantes. Una vez inhalados, los artroconidios asumen forma esférica y se agrandan y forman esférulas que contienen endosporas (fig. 45-16B). Las esférulas también surgen en el laboratorio por el cultivo en un medio complejo.

En los cortes histológicos, en el esputo u otras muestras, la presencia de esférulas confirma la identificación y el diagnóstico de *C. immitis.* Al madurar, las esférulas tienen una pared gruesa doblemente refráctil y pueden alcanzar un diámetro de 80 micrómetros. Ellas quedan acomodadas en forma apiñada con las endosporas (2 a 5 μm de tamaño). Al final la pared se rompe y libera las endosporas que pueden transformarse en nuevas esférulas (fig. 45-16B).

Estructura antigénica

La coccidioidina es un antígeno crudo extraído al filtrar el cultivo líquido de los micelios de *C. immitis.* La esferulina es producida a partir del filtrado del caldo de cultivo en que están las esférulas. En dosis estandarizadas, los dos antígenos desencadenan reacciones cutáneas tardías positivas en sujetos infectados. También se les ha utilizado en diversos métodos serológicos para medir anticuerpos séricos contra *C. immitis.*

Patogenia y manifestaciones clínicas

La inhalación de los artroconidios causa infección primaria, que en 60% de las personas es asintomática. El único signo de infección es la identificación de precipitinas séricas y la conversión a una cutirreacción positiva en cuestión de dos a cuatro semanas. El nivel de precipitinas disminuirá, pero la cutirreacción suele permanecer positiva toda la vida. El 40% restante de personas termina por mostrar un cuadro similar al de influenza, que cede por sí solo, e incluye fiebre, malestar general, tos, artralgias y cefaleas. El trastorno ha sido llamado **fiebre del valle**, del valle de San Joaquín o reumatismo del desierto. Después de una a dos semanas en promedio, 15% de los pacientes mencionados muestran reacciones de hipersensibilidad, cuyas manifestaciones iniciales son erupciones y eritema nudoso o multiforme. En los estudios radiográficos, en forma típica, se advierte en los enfermos adenopatía hiliar junto con infiltrados pulmonares, neumonía, derrame pleural o nódulos. En aproximadamente 5% de los pacientes quedan secuelas pulmonares, por lo común en la forma de un nódulo solitario o una cavidad de paredes delgadas (fig. 45-15).

Menos de 1% de las personas infectadas por *C. immitis* terminan por mostrar coccidioidomicosis secundaria o diseminada, que suele ser debilitante y a veces mortal. Entre los factores de riesgo para que surja tal forma de la enfermedad están herencia, sexo, edad y deficiencias de la inmunidad mediada por células. La enfermedad afecta más a menudo algunos grupos raciales y en orden decreciente de peligro son: filipinos, afroestadounidenses, estadounidenses nativos, personas de extracción hispánica y asiáticos. Existe netamente un componente genético en la respuesta inmunitaria a *C. immitis*. Los varones son más susceptibles que las mujeres, con excepción de las embarazadas, y tal situación pudiera depender de diferencias en la respuesta inmunitaria o a un efecto directo en el hongo de las hormonas sexuales. Por ejemplo, *C. immitis* posee proteínas que fijan estrógeno y los mayores niveles de estradiol y progresterona estimulan su proliferación. Los sujetos de muy corta edad y los muy ancianos están expuestos a un riesgo mayor. Se necesitan las respuestas inmunitarias para que el sujeto cuente con resistencia adecuada y, por esta razón, los enfermos de SIDA u otros cuadros en que hay inmunodepresión celular, están en peligro de presentar coccidioidomicosis diseminada.

Algunos individuos muestran al final una neumopatía crónica pero progresiva, en que surgen nódulos con cavidades que se multiplican o agrandan. La diseminación por lo común se produce en término de 12 meses de la infección primaria. Las esférulas y las endosporas se propagan por extensión directa o por la corriente sanguínea. Pueden abarcar diversos sitios extrapulmonares, pero los órganos que afectan con mayor frecuencia son la piel, los huesos y las articulaciones y las meninges. En cada una de las áreas mencionadas del cuerpo y en otras se advierten manifestaciones clínicas peculiares de las infecciones por *C. immitis*.

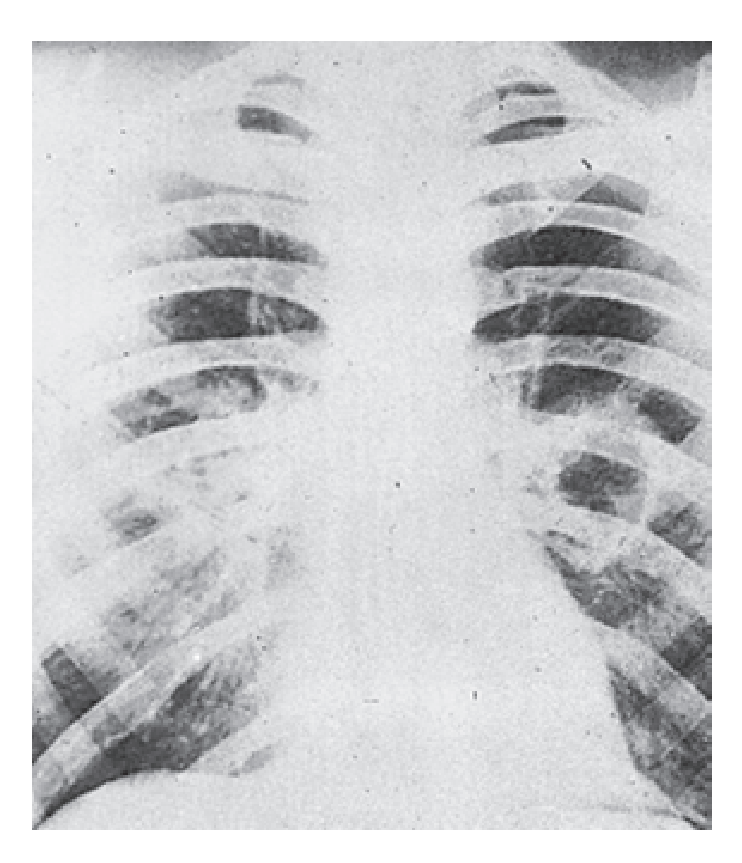


FIGURA 45-15 Radiografía de tórax de un enfermo de coccidioidomicosis, en que se observa linfadenomegalia hiliar y una cavidad en el pulmón izquierdo.

El trastorno se disemina cuando la respuesta inmunitaria no es adecuada para frenar los focos pulmonares. En casi todas las personas la positividad de la cutirreacción denota que la reacción inmunitaria mediada por células es potente y protege de la reinfección. Sin embargo, si las personas en cuestión muestran inmunodepresión con tratamiento con citotóxicos o a causa de enfermedades como el SIDA, se producirá diseminación años después de la infección primaria (enfermedad por reactivación). El cuadro inicial de la coccidioidomicosis en sujetos con SIDA es una neumonitis reticulonodular difusa y rápidamente mortal. Ante la gran similaridad radiológica en el cuadro de esta enfermedad y la neumonía por *Pneumocystis* y los tratamientos que difieren en una y otra entidades, es importante que el clínico se percate de la posibilidad de neumonía por coccidioides en sujetos con síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Los cultivos de sangre denotan la presencia de *C. immitis* (positividad).

En el estudio histológico las lesiones por coccidioides contienen granulomas típicos con células gigantes y, en las zonas intercaladas, pus. El diagnóstico se hace por detección de esférulas y endosporas. La evolución clínica suele caracterizarse por remisiones y recidivas.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras para cultivos incluyen esputo, exudado de lesiones cutáneas, líquido cefalorraquídeo, sangre, orina y fragmentos de tejido para biopsia.

B. Examen microscópico

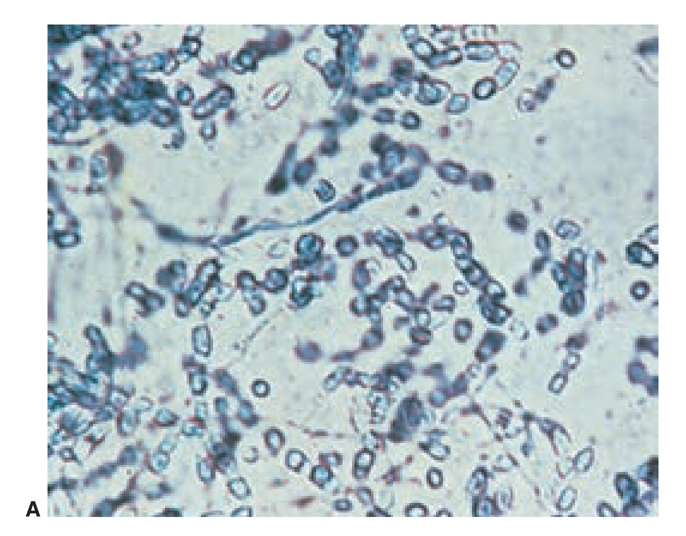
Es importante que el material que se examine sea fresco (después de centrifugación si es necesario) para identificar las típicas esférulas. La detección de ellas y de las endosporas se facilita con hidróxido de potasio o calcoflúor blanco (fig. 45-16B). Tales estructuras a menudo se detectan en preparados histológicos.

C. Cultivos

Los cultivos en agar con sustancias que inhiben la proliferación de mohos, en agar de Sabouraud o en agar sangre inclinado, se incuban a una temperatura ambiental o a 37°C. Los medios se preparan con antibacterianos o sin ellos y cicloheximida, para inhibir la proliferación de bacterias contaminantes y mohos saprófitos. Los artroconidios son muy infectantes y por esa razón los cultivos sospechosos se examinarán en una cabina de bioseguridad (fig. 45-16A). La identificación se confirmará al detectar el antígeno específico de *C. immitis*, por una técnica de inoculación en animales, o por el empleo de una sonda de DNA específica.

D. Estudios serológicos

En término de dos a cuatro semanas de la infección se detectan anticuerpos de tipo IgM a la coccidioidina, por medio de la prueba de aglutinación de látex. Los anticuerpos IgG específicos se detectan por métodos de inmunodifusión (ID) o fijación de



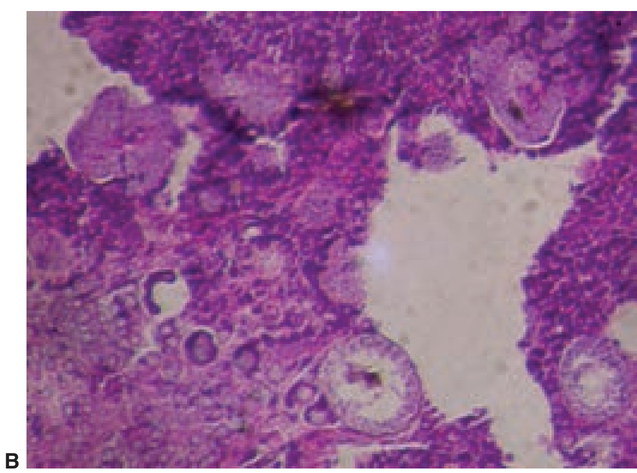


FIGURA 45-16 Especies de *Coccidioides* e imagen de la coccidioidomicosis. **A:** En el cultivo a temperatura ambiental, *Coccidioides posadasii* produce hifas tabicadas hialinas y artroconidios. 400×. **B:** En este corte del pulmón se advierten grandes esférulas que contienen endosporas. Hematoxilina y eosina. 200×.

complemento (CF). Una vez que el episodio primario mostró resolución, en término de meses disminuye el nivel de dichos anticuerpos. A diferencia de ello, en la coccidioidomicosis diseminada el título de anticuerpos en CF sigue en aumento. Los títulos mayores de 1:32 denotan diseminación y su disminución durante el tratamiento sugiere mejoría. Sin embargo, los títulos en CF menores de 1:32 no descartan la posibilidad de coccidioidomicosis. En consecuencia, sólo la mitad de los enfermos de meningitis por coccidioides muestran incremento de anticuerpos séricos, pero los niveles de anticuerpos en el líquido cefalorraquídeo pueden ser grandes. En enfermos de SIDA con coccidioidomicosis, los métodos serológicos mencionados arrojan resultados negativos frecuentemente.

E. Cutirreacciones

La cutirreacción con coccidioidina alcanza su máximo endurecimiento (5 mm o más de diámetro) entre las 24 y las 48 h después de la inyección intracutánea de 0.1 ml de una solución estandarizada. Si los sujetos con la forma diseminada se tornan alérgicos, la cutirreacción arrojará resultados negativos, lo cual denota un pronóstico muy insatisfactorio. Pueden aparecer reacciones cruzadas con antígenos de otros hongos. La esferulina es más sensible que la coccidioidina para detectar a las personas reactoras. Las reacciones a las cutirreacciones tienden a disminuir en tamaño e intensidad años después de la infección primaria en personas que residen en áreas endémicas, pero la cutirreacción tiene un efecto de refuerzo. Después que el sujeto se recupera de la infección primaria, por lo regular es inmune a la reinfección.

Tratamiento

En casi todas las personas la infección primaria sintomática cede por sí sola y se necesita solamente tratamiento de apoyo, aunque el itraconazol puede aplacar los síntomas. Sin embargo, los individuos con la forma grave de la enfermedad necesitan recibir anfotericina B por vía endovenosa. El régimen anterior puede ser seguido por un lapso de la ingestión de itraconazol durante varios meses. Algunos pacientes de meningitis por coccidioides han sido tratados con fluconazol ingerible que muestra penetración satisfactoria del sistema nervioso central; sin embargo, se necesita terapia a largo plazo y se sabe de recidivas. Los azólicos no son más eficaces que la anfotericina B, pero su administración es más fácil y su empleo se acompaña de un número menor de efectos secundarios menos intensos. Con las nuevas emulsiones lípidas de anfotericina B es posible que se administren dosis mayores y ejerzan menos efectos tóxicos. A veces se necesita la extirpación quirúrgica de cavidades primarias, que suele ser curativa.

Epidemiología y control

Las áreas endémicas de *C. immitis* son zonas semiáridas, similares a las zonas biogeográficas bajas de Sonora; incluyen estados del suroeste de Estados Unidos, particularmente los valles de San Joaquín y Sacramento de California, áreas que circundan Tucson y Phoenix en Arizona, el valle del Río Grande y zonas similares en Centroamérica y Sudamérica. Dentro de tales regiones se puede aislar *C. immitis* de la tierra y de roedores propios de la región, y el nivel de reactividad de cutirreacciones en la población denota que han tenido la infección muchos humanos. El índice de la infección alcanza su máximo en los meses secos del verano y del otoño en que prevalecen más las tolvaneras con viento y arena. Una elevada incidencia de infección y enfermedades puede aparecer después de las tolvaneras mencionadas. Durante una epidemia de coccidioidomicosis en el valle de San Joaquín en California en 1991 a 1993, el índice de coccidioidomicosis aumentó más de 10 veces; se ha sugerido que la mayor precipitación pluvial en los meses de primavera de esos años constituyó un estímulo ambiental.

La enfermedad no es transmisible de una persona a otra y no hay pruebas de que los roedores infectados contribuyan a su propagación. Es posible lograr la erradicación de algún modo al disminuir el polvo por la pavimentación de carreteras y campos aéreos, plantar hierbas o cosechas y utilizar aspersores de aceite.

HISTOPLASMOSIS

H. capsulatum es un saprófito dimórfico de la tierra causante de histoplasmosis, que es la micosis pulmonar más prevalente en humanos y en animales. En la naturaleza, dicho saprófito proli-

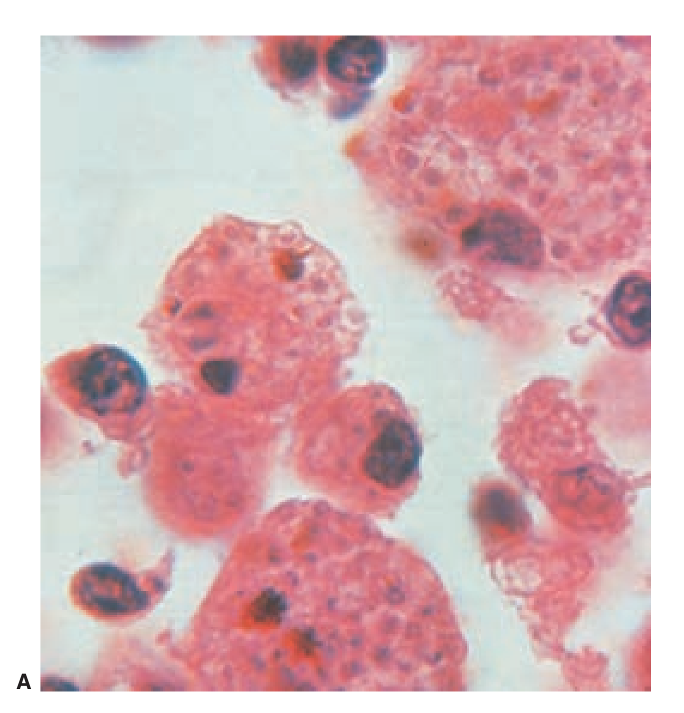
fera en la forma de moho, vinculado con tierra y hábitat de aves y enriquecidas por sustratos nitrogenados alcalinos en el guano. A nivel mundial aparecen *H. capsulatum* e histoplasmosis, desencadenada por la inhalación de conidios. Sin embargo, su incidencia varía enormemente y muchos casos se localizan en Estados Unidos. *H. capsulatum* recibió su nombre del aspecto de las levaduras en los cortes histopatológicos; sin embargo, no es protozoo ni posee cápsula.

Morfología e identificación

A temperaturas menores de 37°C, *H. capsulatum* muestra desarrollo en colonias de mohos pardos, pero su imagen varía. Muchos de los microorganismos proliferan lentamente y se necesitan cuatro a 12 semanas para que las muestras incubadas terminen por desarrollar colonias. Las hifas tabicadas hialinas producen microconidios (2 a 5 μm) y grandes macroconidios esféricos de pared gruesa con proyecciones periféricas de material de la pared (8 a 16 μm) (fig. 45-17B). Las hifas y los conidios, del tejido o *in vitro* en un medio muy nutritivo a 37°C, se transforman en pequeñas levaduras ovales (2 × 4 μm). De forma típica, en los tejidos las levaduras se identifican en el interior de macrófagos, porque *H. capsulatum* es un parásito intracelular facultativo (fig. 45-17A). En el laboratorio, con cepas de apareamiento adecuado se demuestra un ciclo sexual, que origina *Ajellomyces capsulatus* teleomorfo, que produce ascosporas.

Estructura antigénica

La histoplasmina es un antígeno crudo, pero estandarizado, obtenido por filtración del caldo de cultivo en que están micelios. Después de la infección inicial, asintomática en más de 95% de las personas, aparece una cutirreacción tardía y positiva a la histoplasmina. Por métodos serológicos se miden anticuerpos contra los antígenos de levadura y micelios (cuadro 45-4).



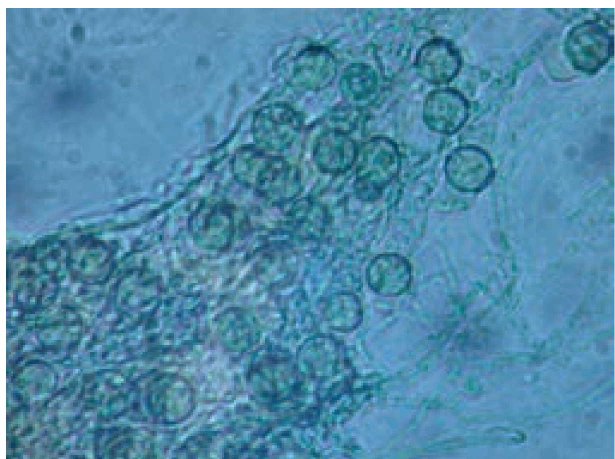


FIGURA 45-17 Histoplasmosis e *Histoplasma capsulatum*. **A:** Levaduras pequeñas ovales (2 a 4 μm), en forma compacta dentro de macrófagos. Tinción de Giemsa. 1 000×. **B:** En el cultivo a temperatura ambiental *Histoplasma capsulatum* produce hifas tabicadas hialinas que llevan microconidios y grandes macroconidios esféricos. 400×.

Patogenia y manifestaciones clínicas

Una vez inhalados los conidios, evolucionan y se transforman en levaduras y son fagocitados por macrófagos alveolares, y en su interior pueden mostrar réplica. En el interior de los macrófagos las levaduras se diseminan a los tejidos reticuloendoteliales como el hígado, el bazo, la médula ósea y ganglios linfáticos. La reacción inflamatoria inicial se torna granulomatosa. En más de 95% de los enfermos la inmunidad de tipo celular resultante origina la secreción de citocinas que activan macrófagos para inhibir la proliferación intracelular de las levaduras. Algunas personas, como las inmunocompetentes que inhalan un inóculo abundante, terminan por mostrar histoplasmosis pulmonar aguda, que es un síndrome que cede por sí solo y es similar a la gripa con fiebre, escalofríos, mialgias, cefalea y tos no productiva. En el estudio radiográfico muchos enfermos mostrarán linfadenopatía hiliar e infiltrados o nódulos pulmonares. El cuadro sintomático muestra resolución espontánea sin tratamiento, y los nódulos granulomatosos en los pulmones u otros sitios curan sin calcificarse.

La histoplasmosis pulmonar crónica se observa más a menudo en varones y por lo común constituye un proceso de reactivación, es decir, la activación de una lesión asintomática surgida años antes; dicha reactivación suele ser desencadenada por daño pulmonar, como el que se observa en el enfisema.

La histoplasmosis diseminada intensa aparece en un corto número de sujetos infectados, en particular lactantes, ancianos y pacientes inmunodeprimidos que incluyen los que tienen síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Hay gran facilidad de ataque del sistema reticuloendotelial y surgen linfadenopatía, esplenomegalia y hepatomegalia, fiebre alta, anemia y un índice grande de mortalidad sin la terapia antimicótica. Se observan a veces úlceras mucocutáneas de vías nasales, boca, lengua e intestinos. En las personas con tales características, los estudios histológicos indican la presencia de áreas locales de necrosis dentro de granulomas en muchos órganos. Las levaduras pueden aparecer en macrófagos de la sangre, el hígado, el bazo y la médula ósea.

CUADRO 45-4 **Resumen de métodos serológicos para detectar anticuerpos contra hongos dimórficos patógenos a nivel sistémico**

			Sensibilidad y valor		
Micosis	**Método**[a]	**Antígeno**[b]	**Diagnóstico**	**Pronóstico**[c]	**Comentarios**
Coccidioidomicosis	TP	C	Primoinfección temprana; son positivos 90% de los casos	Ninguno	
	CF	C	El título de 1:32 o mayor equivale a enfermedad secundaria	El título refleja la intensidad (excepto en el caso de enfermedad meníngea)	Rara vez presenta reactividad cruzada con la histoplasmina
	ID	C	Más de 90% de los casos son positivos, es decir, bandas F o HL (o ambas)		Más específica que la prueba de CF
Histoplasmosis	CF	H	84% o menos de los casos son positivos (título de 1:8 o mayor)	Cambio de cuatro tantos en el título	Reacciones cruzadas en sujetos con blastomicosis, criptococosis o aspergilosis; el título puede ser reforzado por la cutirreacción por histoplasmina
	CF	Y	94% o menos de los casos son positivos (título de 1:8 o mayor)	Cambio de cuatro tantos en el título	Reactividad cruzada menor que con la histoplasmina
	ID	H	85% o más de los casos son positivos, es decir, bandas m o m y h	Pérdida de la banda	La cutirreacción con histoplasmina puede intensificar la banda m; es más específica que la prueba CF
Blastomicosis	CF	By	Menos de 50% de los casos son positivos; confirma el diagnóstico la reacción únicamente al antígeno homólogo	Cambio de cuatro tantos en el título	Reactividad cruzada muy intensa
	ID	Bcf	80% de los casos o menos son positivos, es decir, tienen la banda A	Pérdida de la banda A	Estudio más específico y sensible que la prueba CF
	EIA	A	90% o menos de los casos son positivos (título, 1:16 o mayor)	Cambio del título	Especificidad de 92%
Paracoccidioidomicosis	CF	P	80 a 95% de los casos son positivos (título de 1:8 o mayor)	Cambio de cuatro tantos en el título	Surgen algunas reacciones cruzadas en títulos bajos con sueros de aspergilosis y candidosis
	ID	P	98% de los casos son positivos (bandas 1, 2, 3)	Pérdida de las bandas	Son idénticas la banda 3 y la m (a la histoplasmina)

[a]Pruebas: CF, fijación de complemento; ID, inmunodifusión; TP, precipitina en tubo; EIA enzimoinmunoanálisis.

[b]Antígenos: C, coccidioidina; H, histoplasmina; Y, células de levadura de *H. capsulatum*; By, célula de levadura de *B. dermatitidis*; Bcf, filtrado de cultivo de células de levadura de *B. dermatitidis*; A, antígeno de *B. dermatitidis*; P, concentrado de cultivo de células de levadura de *P. brasiliensis*. En los métodos de inmunodifusión se detectan anticuerpos contra los siguientes antígenos específicos de especie: *C. immitis,* F, HL; *H. capsulatum,* m y h; *B. dermatitidis,* A; y *P brasiliensis,* 1, 2 y 3.

[c]Se consideran importantes los cambios de cuatro tantos en la cuantificación de la fijación de complemento (p. ej., disminución de 1:32 a 1:8) porque representa la desaparición del anticuerpo específico en la inmunodifusión (es decir, se torna negativo).

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras para cultivo incluyen esputo, orina, raspaduras de lesiones superficiales, material de aspiración de médula ósea, la capa de leucocitos. Se pueden estudiar en microscopio las extensiones de sangre y médula ósea y muestras de biopsia. En la histoplasmosis diseminada, se identifica el microorganismo en los cultivos de médula ósea.

B. Examen microscópico

Es posible observar en el interior de macrófagos células ovoides pequeñas en cortes histológicos teñidos con tinción para hongos (como la metenamina argéntica de Gomori), el ácido peryódico de Schiff o el calcoflúor blanco, o en extensiones teñidas con Giemsa, de médula ósea o de sangre (fig. 45-17A).

C. Cultivo

Las muestras se cultivan en medios con abundantes nutrientes como el agar sangre con glucosa y cisteína a 37°C y en agar de Sabouraud o agar con sustancias que inhiben la proliferación de mohos a 25 a 30°C. Los cultivos deben incubarse por lo menos durante cuatro semanas. Hay que alertar al personal de laboratorio ante la sospecha de histoplasmosis, porque los métodos especiales de cultivo de sangre, como la centrifugación y lisis o el medio en caldo para hongos se pueden utilizar para mejorar la identificación de *H. capsulatum*.

D. Serología

Los métodos de fijación de complemento para identificar anticuerpos contra histoplasmina o las levaduras se tornan positivos dos a cinco semanas después de la infección. Los títulos con dicha técnica aumentan durante la enfermedad progresiva y después disminuyen a niveles pequeñísimos cuando la enfermedad se inactiva. En el caso de la enfermedad progresiva los títulos de CF son de 1:32 o mayores. Pueden surgir reacciones cruzadas y por ello sistemáticamente se buscan anticuerpos a otros antígenos de hongos. En la técnica ID se detectan las precipitinas a dos antígenos específicos de *H. capsulatum:* la presencia de anticuerpos contra el antígeno h suele denotar histoplasmosis activa, en tanto que los que aparecen contra el antígeno m pueden ser producto de la repetición de cutirreacciones o exposición en etapas pasadas.

Uno de los métodos más sensibles es un radioanálisis o un enzimoinmunoanálisis para detectar el antígeno circulante de *H. capsulatum.* Prácticamente todos los sujetos con histoplasmosis diseminada muestran positividad en la prueba para detectar el antígeno en el suero o la orina; el nivel del antígeno disminuye después del tratamiento satisfactorio y reaparece durante la recidiva. A pesar de que se producen reacciones cruzadas con otras micosis, dicha prueba para detectar antígeno es más sensible que los métodos corrientes a base de anticuerpos en personas con SIDA e histoplasmosis.

E. Cutirreacción

La cutirreacción con histoplasmina se torna positiva poco después de la infección y así persiste durante años. Puede tornarse negativa en la histoplasmosis progresiva diseminada. Las cutirreacciones repetidas estimulan la producción de anticuerpos séricos en sujetos sensibles, si ello interfiere en la interpretación diagnóstica de los métodos serológicos.

Inmunidad

Después de la infección inicial, muchas personas al parecer desarrollan algún grado de inmunidad. La inmunodepresión puede hacer que se reactive y se disemine la enfermedad. Los sujetos con SIDA pueden presentar histoplasmosis diseminada, sea por reactivación o por una nueva infección.

Tratamiento

La histoplasmosis pulmonar aguda se trata con medidas de apoyo y reposo. El itraconazol es el fármaco adecuado en caso de infecciones leves o moderadas. En la enfermedad diseminada, por lo común se logra curación con el tratamiento sistémico a base de anfotericina B, aunque puede ser necesario continuarlo por largo tiempo y vigilar en busca de recidivas. De modo típico, los individuos con SIDA muestran recidiva a pesar del tratamiento que sería curativo en otros pacientes. Por tal razón, tales individuos necesitan terapia de sostén a base de itraconazol.

Epidemiología y control

La incidencia de histoplasmosis alcanza su máximo en Estados Unidos, país en que las zonas endémicas incluyen los estados del centro y el este y en particular el Valle del Río Ohio y partes del Valle del Río Mississippi. La exposición de muchas personas a grandes inóculos de conidios ha causado innumerables brotes de histoplasmosis aguda; surgen cuando se altera el hábitat natural de *H. capsulatum,* por ejemplo, la tierra mezclada con heces de pájaros (como las perchas de estorninos o gallineros) o el guano de murciélagos (cuevas). Los pájaros no están infectados, pero el excremento posee características excelentes de cultivo para la proliferación del hongo. Los conidios también son diseminados por el viento y el polvo. El brote urbano de mayor magnitud de histoplasmosis se produjo en Indianápolis.

En algunas zonas altamente endémicas, al comenzar la vida adulta, 80 a 90% de los residentes muestran una cutirreacción positiva; muchos presentarán calcificaciones miliares de los pulmones. La histoplasmosis no es transmisible de una persona a otra. Rociar formaldehído en la tierra infectada puede destruir a *H. capsulatum*.

En África, además del patógeno corriente se ha identificado una variante estable, *H. capsulatum* var. *duboisii* que origina la histoplasmosis africana; ella difiere de la enfermedad común porque hay menor afección de pulmones y mayor ataque de la piel y lesiones óseas con abundantes células gigantes que contienen las levaduras, que son de mayor tamaño y más esféricas.

BLASTOMICOSIS

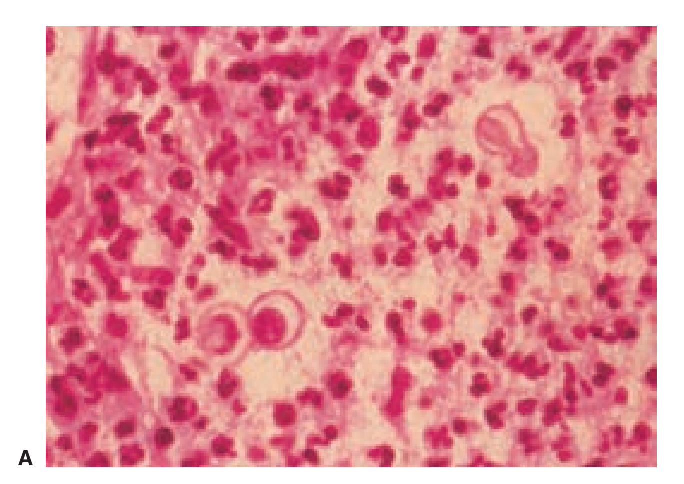
B. dermatitidis es un hongo dimórfico térmicamente, que prolifera en la forma de moho en cultivo y produce hifas tabicadas ramificadas y hialinas, así como conidios. A 37°C o en el hospedador, se transforma en una gran levadura de una sola yema (fig. 45-18). *B. dermatitidis* causa **blastomicosis**, infección crónica que se manifiesta por lesiones granulomatosas y supuradas, que comienzan en los pulmones, y a partir de ellos puede diseminarse a cualquier órgano, pero de manera preferente lo hace a la piel y los huesos. La enfermedad ha recibido el nombre de blastomicosis de América del Norte, porque es endémica y en muchos casos surge en Estados Unidos y Canadá. A pesar de la elevada prevalencia en América del Norte, se ha corroborado la aparición de la enfermedad en África, América del Sur y en Asia. Es endémica en seres humanos y perros en la zona oriental de Estados Unidos.

Morfología e identificación

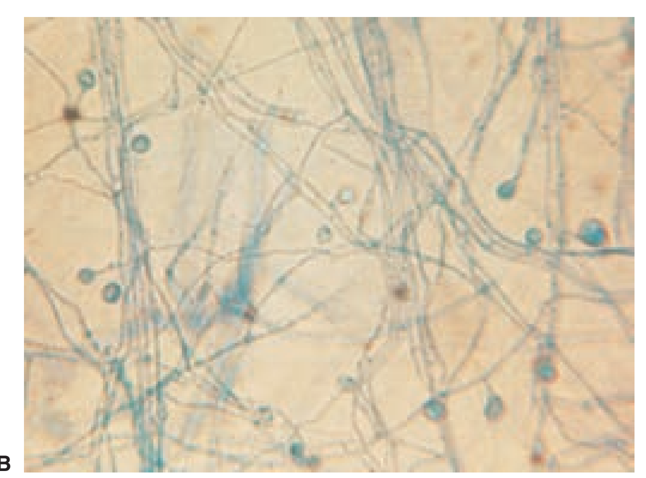
Cuando se inocula *B. dermatitidis* en agar de Sabouraud a temperatura ambiental, surge una colonia blanca o pardusca con hifas ramificadas que poseen conidios esféricos, ovoides o piriformes (de 3 a 5 μm de diámetro) y conidióforos terminales laterales finos (fig. 45-18B). También pueden aparecer clamidosporas de mayor tamaño (7 a 18 μm). En tejidos o cultivo a 37°C el microorganismo prolifera en la forma de una levadura esférica, multinucleada, de pared gruesa (8 a 15 μm) que suele producir yemas individuales (fig. 45-18A). La yema y la levadura original están unidas a una base amplia y la primera suele agrandarse hasta alcanzar el mismo tamaño que la levadura original antes de desprenderse. Las colonias de levaduras están arrugadas, son céreas y blandas.

Estructura antigénica

Los extractos de filtrados de cultivo de *B. dermatitidis* contienen **blastomicina**, probablemente una mezcla de antígenos. Tal sustancia, como reactivo en una cutirreacción, no posee especi-



A



B

FIGURA 45-18 Blastomicosis y *Blastomyces dermatitidis*. **A:** Son notables las levaduras grandes, esféricas y de pared gruesa (8 a 15 μm de diámetro) en este corte de un absceso cutáneo. Hematoxilina y eosina. 400×. **B:** En cultivo a temperatura ambiental *Blastomyces dermatitidis* produce hifas tabicadas hialinas y conidios únicos. 400×.

ficidad ni sensibilidad. Los enfermos a menudo presentan negatividad o pierden su reactividad y en personas expuestas a otros hongos se observan reacciones cruzadas positivas falsas. En consecuencia, no se han realizado encuestas sobre cutirreacciones en la población para establecer el nivel de exposición. La utilidad diagnóstica de la blastomicina como antígeno en el método de CF también es cuestionable, porque son frecuentes las reacciones cruzadas; sin embargo, muchos sujetos con blastomicosis diseminada tienen altos títulos de fijación de complemento. En la técnica ID, con utilización de antisueros de referencia adsorbidos se detectan a veces anticuerpos a un antígeno específico de *B. dermatitidis*, que se ha denominado antígeno A. Para identificar dicho antígeno es más fiable el enzimoinmunoanálisis. Es probable que el motivo inmunodominante genere una respuesta inmunitaria protectora mediada por células, sea parte de una proteína en la superficie o secretada, llamada BAD.

Patogenia y manifestaciones clínicas

La infección de seres humanos comienza en los pulmones. Se han corroborado casos leves y autorremitentes, pero se desconoce su frecuencia, porque no existe prueba cutánea o serológica adecuada con la cual se evalúen las infecciones subclínicas o primarias que mostraron resolución. El cuadro clínico inicial más frecuente es un infiltrado pulmonar que se acompaña de síntomas diversos prácticamente idénticos a los que surgen con otras infecciones agudas de vías respiratorias bajas (fiebre, malestar general, sudoraciones nocturnas, tos y mialgias). El cuadro inicial también puede ser de neumonía crónica. El procedimiento histopatológico indica una reacción piogranulomatosa peculiar con neutrófilos y granulomas no gaseosos. Al diseminarse el microorganismo son más frecuentes las lesiones cutáneas en las superficies expuestas; pueden evolucionar y llegar a ser granulomas verrugosos ulcerados con un borde cada vez más incluyente y cicatriz central. El borde está lleno de microabscesos y tiene un límite inclinado y delimitado. También se observan lesiones de huesos, de genitales (próstata, epidídimo y testículos) y del sistema nervioso central; la frecuencia de ataques suele ser menor en otros sitios. Los enfermos inmunodeprimidos, incluidos los del SIDA, pueden presentar blastomicosis, pero no es tan frecuente en ellos como sucede con otras micosis sistémicas.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras comprenden esputo, pus, exudados, orina y tejido obtenido de las lesiones para biopsia.

B. Examen microscópico

En los preparados húmedos de las muestras se observan a veces yemas fijadas en forma amplia sobre las levaduras de pared gruesa; ellas también pueden identificarse en cortes histológicos (fig. 45-18A).

C. Cultivos

Las colonias por lo común aparecen en un plazo de dos semanas en el agar de Sabouraud, o en el agar sangre enriquecido a 30°C (fig. 45-18B). La identificación se confirma por la conversión a la forma de levadura después del cultivo en un medio con abundantes nutrientes a 37°C, por extracción y detección del antígeno A, que es específico de *B. dermatitidis,* o por medio de una sonda de DNA específica.

D. Serología

Como se señaló en el cuadro 45-4, es posible medir los anticuerpos por medio de las pruebas de fijación de complemento e inmunodifusión. En el EIA, los títulos altos de anticuerpos contra el antígeno A se observan en caso de infección pulmonar o diseminada progresiva. De modo global, los métodos serológicos no son tan útiles para el diagnóstico de blastomicosis, como lo serían en otras micosis endémicas.

Tratamiento

Los casos graves de blastomicosis se tratan con anfotericina B. En sujetos con lesiones circunscritas es muy eficaz el itraconazol durante seis meses.

Epidemiología

La blastomicosis es una infección relativamente frecuente de perros (en raras ocasiones de otros animales) en áreas endémicas.

El trastorno por lo común no se transmite por los animales ni por las personas. A diferencia de *C. immitis* y *H. capsulatum, B. dermatitidis* se ha aislado sólo en raras ocasiones del entorno (y sin capacidad de reproducción), de tal forma que no se sabe cuál es su hábitat natural. Sin embargo, la aparición de algunos brotes pequeños ha permitido vincular a *B. dermatitidis* con bancos fluviales rurales.

PARACOCCIDIOIDOMICOSIS

Paracoccidioides brasiliensis es un hongo térmicamente dimorfo que ocasiona la paracoccidioidomicosis (blastomicosis sudamericana), circunscrita a regiones endémicas de América del Centro y del Sur.

Morfología e identificación

Los cultivos de *P. brasiliensis* en su variedad de moho proliferan con enorme lentitud y producen clamidosporas y conidios. Las características no son peculiares. A 36°C en un medio con abundantes nutrientes, forma grandes levaduras de múltiples yemas (incluso de 30 μm). Las levaduras tienen tamaño mayor y paredes más delgadas que las de *B. dermatitidis*. Las yemas están unidas por una conexión angosta (fig. 45-19).

Patogenia y manifestaciones clínicas

P. brasiliensis penetra en el cuerpo por inhalación y por ello las lesiones iniciales se localizan en los pulmones. Después de un lapso de inactividad que puede durar decenios se activan los granulomas pulmonares con lo cual surge una neumopatía progresiva crónica o diseminación. Muchos enfermos tienen 30 a 60 años de vida y más de 90% son varones. Unos cuantos pacientes (10% o menos), en forma típica tienen menos de 30 años de vida y presentan una infección progresiva aguda o subaguda con un periodo de incubación más breve. En el caso corriente de la paracoccidioidomicosis crónica las levaduras se propagan del pulmón a otros órganos, en particular la piel y tejidos mucocutáneos, ganglios linfáticos, bazo, hígado, suprarrenales y otros sitios. Muchos enfermos tienen como cuadro inicial úlceras dolorosas de la mucosa de la boca. En el estudio histológico se advierten por lo común granulomas con una zona de caseificación central o microabsceso. Las levaduras se observan frecuentemente en células gigantes o de modo directo en el exudado de las lesiones mucocutáneas.

Se han realizado estudios de cutirreacciones con un extracto antigénico, la **paracoccidioidina** que puede mostrar reacción cruzada con la coccidioidina o con la histoplasmina.

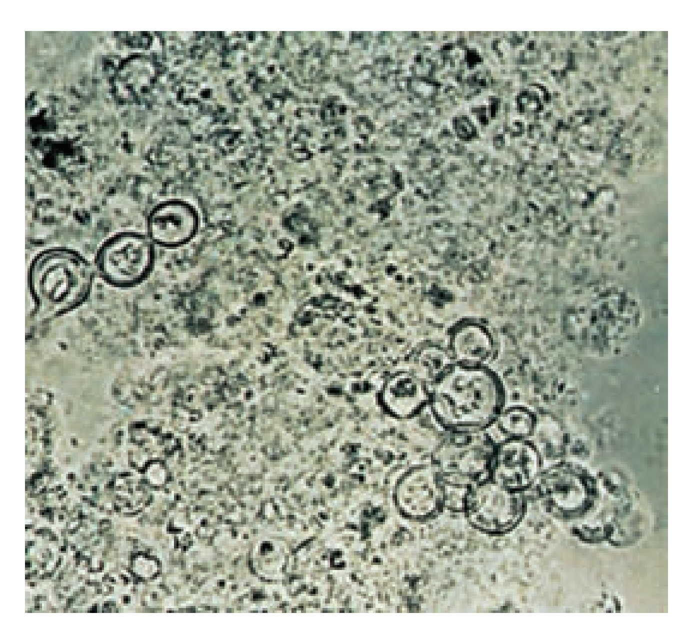


FIGURA 45-19 Paracoccidioidomicosis. Grandes levaduras multigemantes (15 a 30 μm) se observan en una lesión cutánea. Preparación con hidróxido de potasio. 400×.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

En el estudio, los exudados, los tejidos de biopsia o el material de las lesiones, se identifican las levaduras en el estudio microscópico directo con hidróxido de potasio o calcoflúor blanco. Los cultivos en el agar de Sabouraud o el agar con extracto de levaduras se cultivan a la temperatura ambiental y el resultado se confirma al observar conversión a la forma de levadura, por proliferación *in vitro* a 36°C. Los métodos serológicos son los más útiles para el diagnóstico. Los anticuerpos contra la paracoccidioidina se miden por CF o ID (cuadro 45-4). Las personas sanas en áreas endémicas no tienen anticuerpos contra *P. brasiliensis*. En los enfermos los títulos muestran correlación con la intensidad de la enfermedad.

Tratamiento

Al parecer, el itraconazol es el más eficaz contra la paracoccidioidomicosis, pero también lo son el cetoconazol y el trimetoprim-sulfametoxazol. La enfermedad grave puede ser tratada con anfotericina B.

Epidemiología

La paracoccidioidomicosis afecta más bien zonas rurales de América Latina y en ellas en particular a los agricultores. Las manifestaciones del trastorno son mucho más frecuentes en varones que en mujeres, pero por igual en los dos sexos se advierten la infección y la reactividad de las cutirreacciones. *P. brasiliensis* rara vez ha sido aislado de la naturaleza, y por ello no se ha definido su hábitat natural. Como ocurre con otras micosis endémicas, esta enfermedad no es transmisible de una persona otra.

MICOSIS POR OPORTUNISTAS

Los hospedadores con deterioro de sus defensas inmunitarias son susceptibles a muchos hongos de distribución amplia, a los cuales están expuestas personas sanas, y por lo común resistentes. En muchos casos, se puede identificar el tipo del hongo y el curso natural de la micosis por el cuadro predisponente y primario del hospedador. *Candida* y levaduras similares, miembros de la flora bacteriana normal, se tornan oportunistas endógenos. Las micosis por otros oportunistas son causadas por hongos exógenos que en forma global viven en la tierra, el agua y el aire. Serán señalados algunos de los patógenos más comunes, pero sigue en aumento la incidencia y el número de especies de hongos que causan micosis graves en sujetos inmunodeprimidos.

En enfermos de SIDA, guardan relación inversa la susceptibilidad y la incidencia de micosis por oportunistas, con el número de linfocitos CD4.

CANDIDOSIS

Algunas especies de género *Candida* de levaduras pueden causar candidosis. Son miembros de la flora normal de la piel, las mucosas y las vías gastrointestinales. Algunas especies de *Candida* establecen colonias de las superficies mucosas de todos los seres humanos durante el nacimiento o poco después, y siempre existe el riesgo de una infección endógena. La candidosis es la micosis sistémica más común y los agentes que con mayor frecuencia la producen son *C. albicans, C. tropicalis, C. parapsilosis, C. glabrata, C. guilliermondii* y *C. dubliniensis.* El empleo amplio de fuconazol ha desencadenado la aparición de más especies resistentes a azólicos, como *C. krusei* y *C. lusitaniae.*

Morfología e identificación

En cultivos o en los tejidos, especies de *Candida* proliferan en la forma de levaduras ovales gemantes (3 a 6 μm de diámetro). También forman **seudohifas** cuando las yemas siguen creciendo, pero no se desprenden y así producen cadenas de células alargadas que muestran muescas o constricciones en los tabiques entre las células. A diferencia de otras especies de *Candida, C. albicans* es dimórfica; además de las formas de levadura y seudohifas también produce hifas verdaderas (fig. 45-20). En medios de agar o en término de 24 h a 37°C o a temperatura ambiental, las especies de *Candida* producen colonias blandas de color crema con un olor a levadura. Las seudohifas se caracterizan por proliferar en un plano por debajo de la superficie del agar. Dos técnicas morfológicas sencillas permiten diferenciar *C. albicans,* que es el patógeno más frecuente, de otras especies de *Candida:* después de incubación en suero durante unos 90 min a 37°C, las levaduras de *C. albicans* comienzan a formar hifas verdaderas o tubos germinativos (fig. 45-21), y en medios con deficiencia de nutrientes *C. albicans* produce grandes clamidosporas esféricas. Se pueden utilizar la fermentación en azúcar y métodos de asimilación y definir la especie de las *Candida* más comunes, como *C. tropicalis, C. parapsilosis, C. guilliermondii, C. kefyr, C. krusei* y *C. lusitaniae;* la variedad *C. glabrata* tiene la peculiaridad entre los patógenos de ese grupo, de que produce solamente levaduras y no seudohifas.

Estructura antigénica

Por medio de antisueros adsorbidos se han podido definir dos serotipos de *C. albicans*: A (que incluye *C. tropicalis*) y B. Se han definido otros antígenos más que incluyen proteasas secretadas, una enolasa inmunodominante y proteínas de choque calórico.

Patogenia y anatomía patológica

La candidosis superficial (cutánea o de mucosas) surge por un incremento en el número local de células de *Candida* y daño de la piel o del epitelio, que permite la invasión local por las levaduras y por las seudohifas. Aparece candidosis sistémica cuando *Candida* penetra en la corriente sanguínea y las defensas del hospedador no bastan para contener la proliferación y la diseminación de dichas células. Desde la sangre *Candida* infecta riñones, se fija a las prótesis valvulares del corazón o produce candidosis en cualquier otro sitio (como artritis, meningitis o endoftalmitis). La arquitectura histológica local de las lesiones cutáneas o mucocutáneas se caracteriza por reacciones inflamatorias que van desde abscesos piógenos hasta granulomas crónicos. Las células contienen innumerables levaduras gemantes y seudohifas. El incremento importante del número de *Candida* en vías gastrointestinales suele surgir después de administrar antibióticos antibacterianos por la boca, y las levaduras se incorporan a la circulación al cruzar la mucosa intestinal.



FIGURA 45-20 *Candida albicans.* Se observan levaduras gemantes (blastoconidios), hifas y seudohifas. 400×.

Manifestaciones clínicas

A. Candidosis cutánea y de mucosas

Los factores de riesgo para que surja candidosis superficial comprenden SIDA, embarazo, diabetes, edades muy tempranas o muy tardías (lactantes o ancianos), píldoras anticonceptivas y traumatismos (quemaduras, maceración de la piel). El **algodoncillo** aparece en la lengua, los labios, las encías o el paladar blando. Es irregular y también puede presentar lesiones seudomembranosas blanquecinas y confluentes compuestas de células epiteliales, levaduras y seudohifas. El algodoncillo aparece en casi todos los enfermos de síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Otros factores de peligro comprenden la corticotera-



FIGURA 45-21 Tubo germinativo. A diferencia de otras especies de *Candida, Candida albicans* produce hifas verdaderas, levaduras gemantes y seudohifas. Después de incubación en suero a 37°C durante 60 a 90 min en el laboratorio, *Candida albicans* obtenidas de personas son estimuladas para formar hifas, proceso iniciado con la generación de tubos germinativos con estructuras más finas y más uniformes que las seudohifas. (Consúltese la figura 45-20.) 1 000×.)

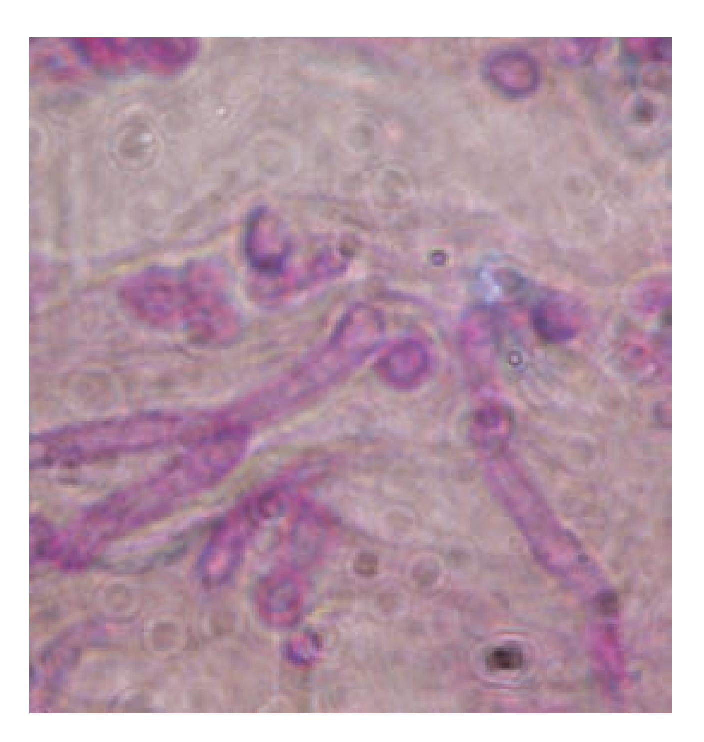


FIGURA 45-22 Candidosis. Levaduras y seudohifas en tejidos, teñidas con ácido peryódico de Schiff. 1 000×.

pia o la antibioticoterapia, hiperglucemia e inmunodeficiencia mediada por células. La invasión de la mucosa vaginal por levaduras origina **vulvovaginitis** que se caracteriza por irritación, prurito y secreción vaginal; antes de que surja tal cuadro a veces actúan factores como diabetes, embarazo o administración de antibacterianos que alteran la flora microbiana, el pH ácido local o secreciones. Otras formas de **candidosis cutánea** incluyen la invasión de la piel, cuando este órgano es debilitado por traumatismos, quemaduras o maceración. La infección intertriginosa aparece en zonas húmedas y calientes del cuerpo como axilas, ingles y pliegues interglúteo o inframamario y es más común en personas obesas y en los diabéticos. Las zonas infectadas se tornan rojas y húmedas y en ellas pueden surgir vesículas. La afección en el espacio interdigital aparece después de la inmersión duradera y repetida en agua y es más frecuente en amas de casa, cantineros, cocineros y personas que manipulan verduras y pescado. La invasión de las uñas y alrededor de la placa ungueal por *Candida* origina **onicomicosis** que es una hinchazón dolorosa y eritematosa del pliegue ungueal que se asemeja a la paroniquia piógena y al final puede destruir la uña.

B. Candidosis sistémica

La candidemia puede ser causada por catéteres o sondas a permanencia, operaciones, abuso de drogas intravenosas, broncoaspiración o daño de la piel o las vías gastrointestinales. En casi todos los sujetos con defensas normales las levaduras son eliminadas y la candidemia es transitoria. Sin embargo, en sujetos con deficiencia innata de fagocitos, como células de defensa, pueden surgir en cualquier sitio lesiones ocultas, en particular en riñones, piel (lesiones macronodulares), ojos, corazón y meninges. La candidosis sistémica surge más a menudo con la administración a largo plazo de corticoesteroides y otros inmunodepresores; en caso de enfermedades hematológicas como leucemia, linfoma y anemia aplásica, y en enfermedad granulomatosa crónica. La endocarditis por *Candida* suele acompañar al depósito y la proliferación de las levaduras y las seudohifas en prótesis valvulares del corazón o vegetaciones. Las infecciones renales suelen ser una manifestación de índole general, en tanto que las de vías urinarias suelen aparecer con factores como sondas de Foley, diabetes, embarazo y antibióticos antibacterianos.

C. Candidosis mucocutánea crónica

Casi todas las formas de esta enfermedad rara comienzan en la niñez temprana, acompañan a inmunodeficiencias de índole celular y endocrinopatías y originan infecciones crónicas y superficiales con desfiguración en cualquier zona de la piel o las mucosas o en todas ellas.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras comprenden el material obtenido con aplicadores y raspaduras de lesiones superficiales, sangre, líquido cefalorraquídeo, tejidos para biopsia, orina, exudados y material de los catéteres intravenosos extraídos.

B. Examen microscópico

El tejido de biopsia, el líquido cefalorraquídeo centrifugado y otras muestras se examinan en extensiones teñidas por la técnica de Gram o laminillas histopatológicas en busca de seudohifas y células gemantes (fig. 45-22). En primer lugar las raspaduras de

piel o uñas se colocan en una laminilla a la que se agrega una gota de hidróxido de potasio al 10% (KOH) y calcoflúor blanco.

C. Cultivo

Todas las muestras son cultivadas en medios para hongos o bacterias, a temperatura ambiental o a 37°C. Las colonias de levaduras son estudiadas en busca de seudohifas. *C. albicans* se identifica por la producción de tubos germinativos o clamidosporas. La especie de otras variedades de *Candida* se identifica por un conjunto de reacciones bioquímicas. La interpretación de los cultivos positivos varía con la muestra. Los que surgen de sitios normalmente estériles del cuerpo son importantes. La utilidad diagnóstica de un cultivo cuantitativo de orina depende de la integridad de la muestra y del número de levaduras. Las sondas de Foley contaminadas pueden propiciar cultivos "positivos falsos" de orina; este tipo de cultivos puede denotar la presencia de candidosis sistémica o candidemia transitoria por un catéter intravenoso contaminado. Los cultivos de esputo carecen de utilidad porque las especies de *Candida* son parte de la flora de la boca. La identificación del microorganismo en cultivos de lesiones de la piel confirman el diagnóstico.

D. Serología

En términos generales, los métodos serológicos disponibles tienen especificidad o sensibilidad escasas. Los anticuerpos séricos y la inmunidad mediada por células se pueden demostrar en muchas personas como consecuencia a una exposición duradera a candida. En la candidosis sistémica puede haber incremento de los títulos de anticuerpos a diversos antígenos de *Candida*, pero no existen criterios nítidos para corroborar el diagnóstico por métodos serológicos. La detección del manano parietal circulante por medio de un método de aglutinación de látex o un enzimoinmunoanálisis es mucho más específica, pero no tiene sensibilidad, porque muchos enfermos muestran positividad transitoria o porque no generan títulos importantes y detectables de antígeno, hasta la fase tardía de la enfermedad. Está en estudio un nuevo método serológico promisorio para identificar un β-glucano que aparece en la pared de muchas especies de hongos.

Inmunidad

Las bases de la resistencia a la candidosis son complejas y no se conocen del todo. Las respuestas inmunitarias mediadas por células, en particular los linfocitos CD4, son importantes para controlar la candidosis mucocutánea, y los neutrófilos probablemente tengan importancia decisiva en la resistencia en la candidosis sistémica.

Tratamiento

El algodoncillo y otras formas mucocutáneas de candidosis suelen ser tratadas con nistatina tópica, o con cetoconazol o fluconazol ingeribles. La forma sistémica o generalizada se trata con anfotericina B, a veces junto con flucitosina, fluconazol o caspofungina ingeribles. Las lesiones cutáneas desaparecen con mayor rapidez si se eliminan los factores contribuyentes como la humedad excesiva o el consumo de antibacterianos. La candidosis mucocutánea crónica mejora satisfactoriamente con el cetoconazol oral y otros azólicos, pero algunos pacientes tienen un defecto genético en su inmunidad de tipo celular y necesitan tratamiento permanente.

Suele ser difícil definir el diagnóstico temprano de la candidosis sistémica, porque los signos clínicos no son definitivos y los cultivos arrojan resultados negativos. Además, no existe un régimen profiláctico definido para sujetos en peligro, aunque suele estar indicado el tratamiento con un azólico o con un ciclo breve de anfotericina B en dosis pequeñas en enfermos febriles o debilitados inmunodeficientes y que no mejoran con la terapia antibacteriana (véase adelante).

Epidemiología y control

La medida preventiva más importante es evitar que se perturbe el equilibrio normal de la flora microbiana, y que permanezcan intactas las defensas del hospedador. La candidosis no es transmisible porque prácticamente todas las personas tienen en su cuerpo el microorganismo.

CRIPTOCOCOSIS

Cryptococcus neoformans y *C. gattii* son levaduras de basidiomicetos con grandes cápsulas de polisacáridos. *C. neoformans* está distribuida a nivel mundial en la naturaleza y se le aísla fácilmente de las heces secas de palomas. *C. gattii* es menos frecuente y en forma típica está en árboles en áreas tropicales. Las dos especies originan criptococosis, que aparece después de inhalar levaduras secas y posiblemente basidiosporas de mayor tamaño. Desde los pulmones dichas levaduras neurotrópicas típicamente terminan en el sistema nervioso central, en donde causan meningoencefalitis. Sin embargo, también son capaces de infectar otros órganos (como piel, ojos o próstata). *C. neoformans* aparece en personas inmunocompetentes, pero lo hace con mayor frecuencia en enfermos de VIH/SIDA, cánceres hematógenos y otros cuadros inmunosupresores. La criptococosis por *C. gattii* es más rara y por lo común surge en hospedadores aparentemente normales.

Morfología e identificación

En cultivos, la especie de *Cryptococcus* produce colonias mucoides blanquecinas en término de dos a tres días. En el estudio microscópico del material de cultivo o clínico, las levaduras esféricas gemantes (5 a 10 μm de diámetro) están rodeadas por una gruesa cápsula que no capta colorantes (fig. 45-23). Todas las especies de *Cryptococcus*, incluidas algunas especies no patógenas, están encapsuladas y poseen ureasa. Sin embargo, *C. neoformans* y *C. gattii* difieren de especies no patógenas porque pueden proliferar a 37°C y pueden producir laccasa, una fenol oxidasa, que cataliza la formación de melanina a partir de sustratos fenólicos apropiados (como las catecolaminas). La cápsula y la laccasa (una enzima cuprosa) son factores perfectamente definidos de virulencia. Los microorganismos que afectan seres humanos se identifican al demostrar que producen laccasa o por características específicas de asimilaciones de carbohidratos. Por medio de antisueros adsorbidos se han definido cinco serotipos (A-D y AD); algunas cepas de *C. neoformans* pueden tener lo serotipos A, D, o AD y algunos aislados de *C. gattii* pueden tener los serotipos B o C. Además de sus serotipos capsulares, las dos especies muestran diferencias en sus genotipos, en sus aspectos ecológicos, algunas reacciones químicas

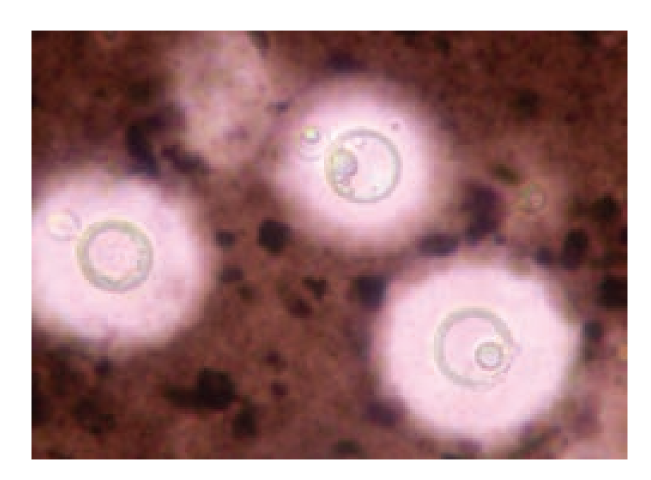


FIGURA 45-23 Criptococosis. En esta muestra obtenida por lavado pulmonar se advierte netamente la cápsula de *Cryptococcus neoformans*. Tinción de Giemsa. 1 000×

y manifestaciones clínicas. Es posible demostrar en el laboratorio la reproducción sexual, y el apareamiento adecuado origina la producción de micelios y basidiosporas; las especies teleomórficas correspondientes de las dos variedades son *Filobasidiella neoformans* var. *neoformans* (serotipos A y D) y *Filobasidiella neoformans* var. *bacillispora* (serotipos B y C).

Estructura antigénica

Los polisacáridos capsulares, independientemente del serotipo, poseen una estructura similar: son polímeros largos sin ramificaciones que consisten en un esqueleto de polimanosa con uniones 1,3-α y ramas monoméricas con uniones β de xilosa y ácido glucurónico. En la infección, el polisacárido capsular es solubilizado en el líquido cefalorraquídeo, el suero o la orina y se le detecta por medio de un enzimoinmunoanálisis o por aglutinación de las partículas de látex recubiertas de anticuerpos contra el polisacárido. Con testigos apropiados los resultados del estudio en cuestión permiten diagnosticar criptococosis. También es posible medir los anticuerpos del paciente contra la cápsula, aunque no se utiliza en el diagnóstico.

Patogenia

La infección es iniciada por la inhalación de las levaduras, que en la naturaleza están secas, con mínima cápsula y que se pueden dispersar fácilmente en aerosol. La infección pulmonar primaria puede ser asintomática o remedar un cuadro de infección respiratoria similar a la influenza que suele ceder espontáneamente. En individuos inmunodeficientes las levaduras pueden multiplicarse y diseminarse a otras zonas del cuerpo, pero se dirigen preferentemente al sistema nervioso central, en el cual ocasionan meningoencefalitis por criptococos. Otros sitios de diseminación frecuente son la piel, las suprarrenales, los huesos, los ojos y la próstata. La reacción inflamatoria suele ser mínima o de tipo granulomatoso.

Manifestaciones clínicas

La principal manifestación clínica es la meningitis crónica que puede remedar trastornos como tumor o abscesos cerebrales, o una enfermedad degenerativa del sistema nervioso central o cualquier meningitis por micobacterias u hongos. Pueden aumentar la tensión y el nivel de proteínas del líquido cefalorraquídeo y también el número de células en él, en tanto que su nivel de glucosa es normal o menor. El paciente puede señalar cefalea, rigidez del cuello y desorientación. Además, puede haber lesiones de piel, pulmones u otros órganos.

La evolución de la meningitis por criptococos puede fluctuar durante periodos largos, pero sin tratamiento todos los casos al final son mortales. Se sabe que 5 a 8% de los sujetos con SIDA terminan por mostrar meningitis por criptococos. La infección no se transmite de una persona a otra.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras, examen microscópico y cultivo

Las muestras por lo común son de líquido cefalorraquídeo, tejidos, exudados, esputo, sangre, raspaduras de piel y orina. El líquido cefalorraquídeo es centrifugado antes de su estudio microscópico y cultivo. En el caso de la microscopia directa, las muestras por lo común se examinan en preparados húmedos, en forma directa, y después de mezclarlas con tinta china, con la cual se delinea la cápsula (fig. 45-23).

Las colonias aparecen en término de unos cuantos días en casi todos los medios, a temperatura ambiental o a 37°C. Es importante no usar medios con cicloheximida porque inhiben el crecimiento de *Cryptococcus*. Los cultivos se identifican por proliferación del criptococo a 37°C y la detección de ureasa. Como otra posibilidad, con un sustrato difenólico apropiado, la fenol oxidasa (o laccasa) de *C. neoformans* y *C. gattii* produce melanina en las paredes del microorganismo y las colonias adquieren un pigmento pardo.

B. Serología

En el líquido cefalorraquídeo y en el suero se pueden realizar métodos para identificar el antígeno capsular. La aglutinación del látex en laminilla en busca del antígeno criptococócico es positiva en 90% de los individuos con meningitis por este microorganismo. Con el tratamiento eficaz, disminuye el título del antígeno, excepto en enfermos de SIDA, quienes por largo tiempo conservan un título alto del mismo.

Tratamiento

Se considera que el tratamiento estándar de la meningitis criptococócica es la combinación de anfotericina B y flucitosina, aunque no hay consenso en cuanto al beneficio de agregar el segundo fármaco. Muchos pacientes curan con la anfotericina B (con flucitosina o sin ella). Los enfermos de SIDA con criptococosis casi siempre recaen cuando se interrumpe el uso de la anfotericina B, razón por la cual necesitan terapia supresora a base de fluconazol; este último penetra en forma excelente en el sistema nervioso central. Los enfermos de VIH/SIDA tratados con antirretrovirales altamente activos (HAART) tienen una menor incidencia de criptococosis y también un pronóstico mucho mejor. Sin embargo, un subgrupo de esos pacientes termina por mostrar el síndrome inflamatorio de reconstitución inmunitaria, que exacerba su enfermedad.

Epidemiología y control

El excremento de pájaros (en particular el de palomas) es un medio en el que prolifera abundantemente *C. neoformans* y actúa

como un reservorio de la infección. El criptococo prolifera de modo muy abundante aunque los animales no estén infectados. Además de enfermos de SIDA o cánceres hematológicos, los individuos que reciben corticoesteroides como terapia de mantenimiento son muy susceptibles a la criptococosis.

La mayor parte de los casos globales de la enfermedad es causada por *C. neoformans* (serotipos A, D o AD). Sin embargo, en la zona del noroeste de la costa del Pacífico en Estados Unidos ha surgido *C. gattii*, especie normalmente tropical, y en esa zona se le ha identificado en algunas especies locales de árboles, tierra y agua. Desde el año 2000, casos en personas y animales se han ampliado desde la isla de Vancouver a zonas de tierra firme de la Columbia Británica, Washington y Oregon.

ASPERGILOSIS

La aspergilosis comprende un conjunto de enfermedades que pueden ser causadas por diversas especies de *Aspergillus*, que son saprófitas de distribución amplísima en la naturaleza y por ello la enfermedad aparece a nivel mundial. Para los humanos el patógeno más frecuente es *A. fumigatus*, pero pueden causar enfermedad otros más como *A. flavus, A. niger, A. terreus* y *A. lentulus*. El moho en cuestión produce abundantemente conidios pequeños que pueden ser dispersados fácilmente en el aire (por aerosol). Después de inhalarlos los sujetos atópicos suelen presentar grandes reacciones alérgicas a los antígenos de esas estructuras. En pacientes inmunodeprimidos y en particular los que tienen leucemia, quienes han recibido blastos en trasplante y personas sometidas a corticoterapia, los conidios pueden germinar y producir hifas que invaden los pulmones y otros tejidos.

Morfología e identificación

Las especies de *Aspergillus* proliferan rápidamente, y producen hifas aéreas que poseen las estructuras características de los conidios: conidióforos largos con vesículas terminales en los cuales las fiálides producen cadenas basipetales de conidios (fig. 45-6). Las especies se identifican con base en las diferencias morfológicas de tales estructuras, que incluyen el tamaño, la forma, la textura y el color de los conidios.

Patogenia

En los pulmones los macrófagos alveolares pueden fagocitar y destruir los conidios. Sin embargo, en el caso de animales sometidos a corticoterapia o enfermos inmunodeprimidos, las células mencionadas muestran una menor capacidad de engullir el inóculo. En los pulmones, los conidios se hinchan y germinan hasta producir hifas que tienden a invadir cavidades preexistentes (aspergiloma o bola fungosa), o vasos sanguíneos.

Manifestaciones clínicas

A. Formas de alergia

En algunas personas atópicas la aparición de anticuerpos de tipo IgE contra los antígenos superficiales de los conidios de *Aspergillus* desencadena inmediatamente una reacción asmática en la nueva exposición. En otros, los conidios germinan y las hifas colonizan el árbol bronquial sin invadir el parénquima pulmonar, fenómeno que es característico de la **aspergilosis broncopulmonar alérgica**, que se define clínicamente por cuadros como asma, infiltrados pulmonares recurrentes, eosinofilia y los dos tipos de hipersensibilidad cutánea I (inmediata) y III (de Arthus) contra el antígeno de *Aspergillus*. Muchos enfermos generan esputo con *Aspergillus* y precipitinas séricas; muestran dificultad para respirar y también presentan cicatrices pulmonares permanentes. Los hospedadores normales expuestos a dosis masivas de conidios pueden presentar **alveolitis alérgica extrínseca**.

B. Aspergiloma y colonización extrapulmonar

Surge un aspergiloma cuando los conidios inhalados penetran en alguna cavidad existente, y en ella germinan y producen abundantes hifas en ese espacio pulmonar anormal. Están en peligro los enfermos que tenían ya alguna enfermedad cavitaria (como tuberculosis, sarcoidosis o enfisema). Algunos enfermos son asintomáticos, en tanto que otros terminan por mostrar tos, disnea, adelgazamiento, fatiga y hemoptisis. Los casos de aspergiloma rara vez se tornan invasores. Las infecciones localizadas no invasoras (colonización) por especies de *Aspergillus* pueden afectar los senos paranasales, el conducto auditivo, la córnea o las uñas.

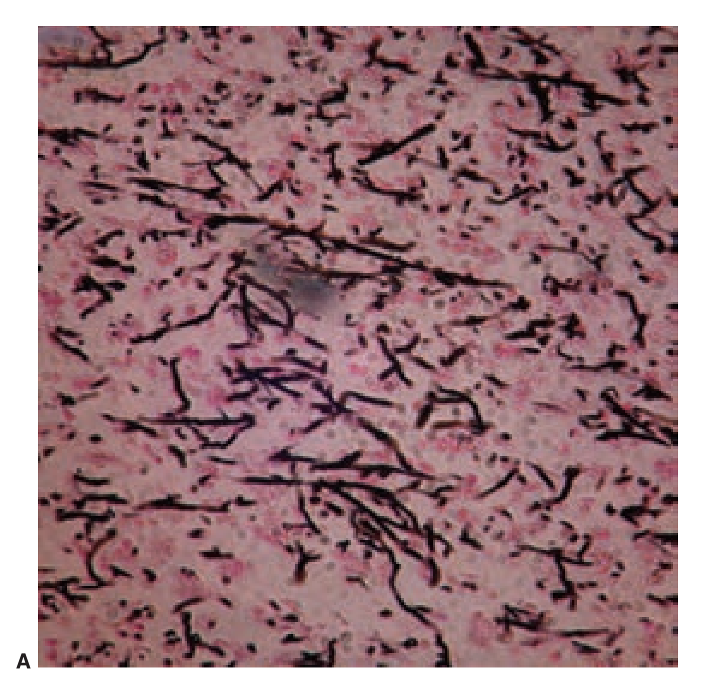
C. Aspergilosis invasora

Después de que los conidios son inhalados y germinan aparece enfermedad invasora en la forma de un cuadro neumónico agudo con diseminación. Los sujetos en peligro son los que tienen leucemia linfocítica o mielógena y linfoma, quienes han recibido trasplante de blastos, y en particular, los individuos sometidos a corticoterapia. El riesgo es mucho mayor en individuos que han recibido en trasplante hemoblastos alógenos (y no autólogos). Además, están predispuestos a la aspergilosis invasora los pacientes de SIDA con un número de linfocitos CD4 menor de 50 células/milímetro cúbico. Los síntomas incluyen fiebre, tos, disnea y hemoptisis. Las hifas invaden el interior y las paredes de los vasos sanguíneos y originan trombosis, infarto y necrosis. Desde los pulmones la enfermedad puede propagarse al aparato gastrointestinal, los riñones, el hígado, el cerebro u otros órganos, y producir abscesos y lesiones necróticas. Si no se emprende rápidamente el tratamiento, el pronóstico de personas con aspergilosis invasora es grave. Los individuos con una enfermedad primaria que deteriora con menor intensidad sus defensas pueden al final presentar aspergilosis pulmonar necrosante crónica, que es un cuadro menos grave.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras, examen microscópico y cultivo

El esputo, otras muestras de vías respiratorias y tejido pulmonar para biopsia constituyen muestras adecuadas. Las muestras de sangre rara vez arrojan resultados positivos. En el examen directo del esputo con hidróxido de potasio o con calcoflúor blanco o en cortes histológicos, las hifas de especies de *Aspergillus* son hialinas, tabicadas y de ancho uniforme (en promedio, 4 μm), y sus ramificaciones dicotómicas (fig. 45-24). Las especies de *Aspergillus* proliferan en término de días en casi todos los medios a temperatura ambiental. Las especies en cuestión se identifican con base en la morfología de la estructura de sus conidios (fig. 45-6).


A

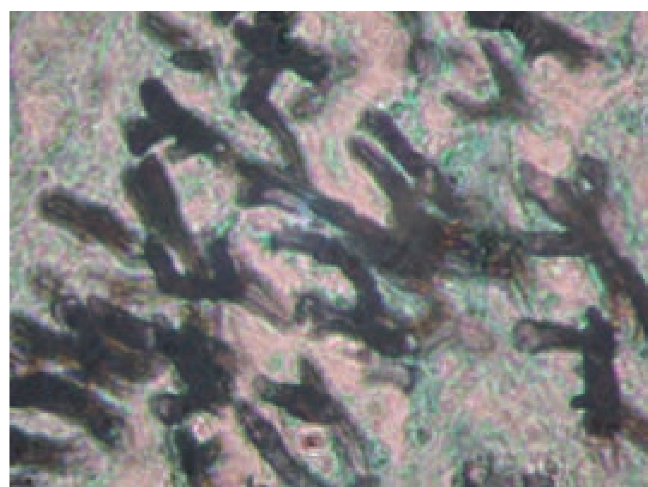

B

FIGURA 45-24 Aspergilosis invasora. **A:** Hifas uniformes, tabicadas y ramificadas (anchura cercana a 4 µm) de *Aspergillus fumigatus* en tejido pulmonar teñido con metenamina argéntica de Gomori. 400×. **B:** Preparación similar con colorante de Grocott. 1 000×.

B. Serología

El método intradérmico para identificar precipitinas contra *A. fumigatus* es positivo en más de 80% de personas con aspergiloma o formas alérgicas de la aspergilosis, pero las técnicas a base de anticuerpos no son útiles en el diagnóstico de aspergilosis invasora. Sin embargo, arroja resultados que confirman el resultado del método serológico para identificar los galactomananos circulantes (de la pared del microorganismo).

Tratamiento

El aspergiloma se trata con itraconazol y anfotericina B y alguna operación. La forma invasora obliga a la administración rápida de la presentación original a base de lípidos de la anfotericina B o el voriconazol, a menudo complementado con inmunoterapia a base de citocinas (como el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos o el interferón γ). En algunos centros que tratan la leucemia han surgido algunas cepas resistentes a la anfotericina B de *A. terreus* y de otras especies que incluyen *A. flavus* y *A. lentulus*, y pudieran ser más eficaces contra ellas nuevos triazólicos como el posaconazol. La enfermedad necrosante crónica y menos grave de pulmones puede tratarse con voriconazol o itraconazol. Las formas alérgicas de la aspergilosis se tratan con corticoesteroides o cromoglicato disódico.

Epidemiología y control

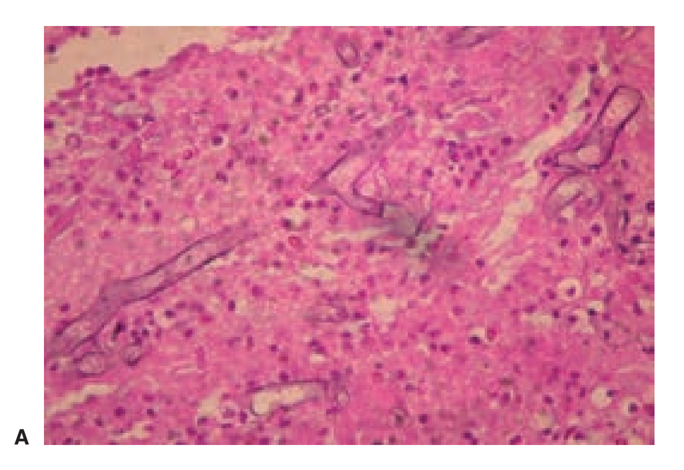
Las personas en peligro de mostrar enfermedad alérgica o aspergilosis invasora se someterán a medidas para evitar la exposición a los conidios de *Aspergillus*. Casi todas las unidades de trasplante de médula ósea utilizan sistemas de filtros y aire acondicionado, monitorización de contaminantes aéreos en las estancias de los enfermos, disminución del número de visitantes y práctica de otras medidas para aislar a los pacientes y llevar al mínimo el peligro de exposición a los conidios de *Aspergillus* y otros mohos. Algunas personas en peligro de mostrar aspergilosis invasora reciben con fin profiláctico dosis pequeñas de anfotericina B o itraconazol.

MUCORMICOSIS

La mucormicosis (cigomicosis) es una micosis por oportunistas, causada por diversos mohos clasificados en el orden Mucorales del filo Zygomycota. Los hongos en cuestión son sapróbicos distribuidos ampliamente, y son termotolerantes. Los principales patógenos del grupo son especies de los géneros *Rhizopus* (fig. 45-2), *Rhizomucor, Absidia, Cunninghamella* (fig. 45-3) y *Mucor* entre otros. Sin embargo, el agente más frecuente es *Rhizopus oryzae*. Las situaciones que imponen riesgos a los pacientes comprenden acidosis, en particular la que surge con la diabetes mellitus, leucemias, linfoma, corticoterapia, quemaduras graves, inmunodeficiencias y otros cuadros debilitantes, así como diálisis con la deferoxamina, un quelante de hierro.

La principal forma clínica es la mucormicosis rinocerebral que es consecuencia de germinación de las esporangiosporas en las vías nasales y la invasión de las hifas en vasos sanguíneos, que causa trombosis, infarto y necrosis. La enfermedad evoluciona rápidamente, con invasión de senos paranasales, ojos, huesos craneales y cerebro. El microorganismo lesiona vasos sanguíneos y nervios y los pacientes terminan por mostrar edema de las zonas faciales afectadas, de las vías nasales mana un exudado sanguinolento y hay celulitis orbitaria. La mucormicosis torácica aparece después de la inhalación de las esporangiosporas con invasión del parénquima pulmonar y sus vasos. En ambos sitios la necrosis isquémica causa destrucción masiva de tejidos. Con menor frecuencia el proceso se ha vinculado con apósitos contaminados de heridas y otras situaciones.

En el examen directo o el cultivo de la secreción nasal, de tejidos, o del esputo, se identificarán hifas anchas (10 a 15 µm), con espesor desigual, ramificaciones irregulares y pocos tabiques (fig. 45-25). Los hongos de esta especie proliferan rápidamente en medios de laboratorio y generan abundantes colonias algodonosas. Su identificación se basa en la estructura de sus esporangios. El tratamiento comprende el desbridamiento quirúrgico intensivo, la administración rápida de anfotericina B y


A

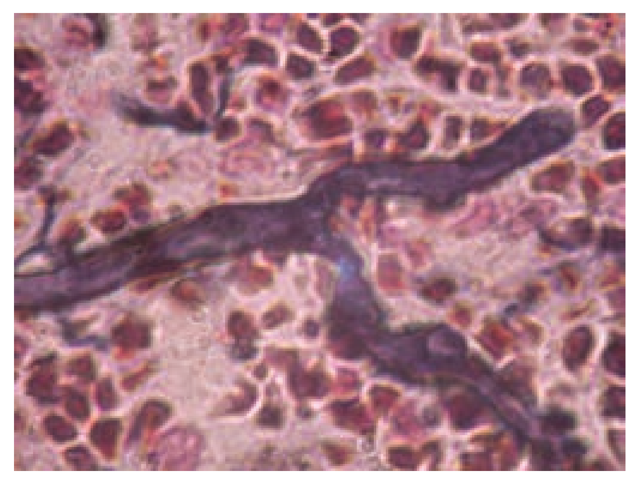

B

FIGURA 45-25 Mucormicosis (cigomicosis). **A:** Hifas poco tabicadas, anchas, similares a cintas (10 a 15 µm de ancho) de *Rhizopus oryzae* en tejido pulmonar. Hematoxilina y eosina, 400×. **B:** Muestra histopatológica similar, teñida con metenamina argéntica de Gomori. 1 000×.

el control de la enfermedad primaria. Muchos enfermos sobreviven, pero pueden quedar efectos residuales como la parálisis facial parcial o la pérdida de un ojo.

NEUMONÍA POR *PNEUMOCYSTIS*

Pneumocystis jiroveci origina neumonía en pacientes inmunodeprimidos, pero su diseminación es rara. Hasta fecha reciente se pensaba que dicho microorganismo era un protozoo, pero se ha comprobado por medio de estudios de biología molecular que es un hongo, íntimamente vinculado a los ascomicetos. Están presentes especies de *Pneumocystis* en los pulmones de muchos animales (ratas, ratones, perros, gatos, y hurones), pero rara vez causan enfermedad, salvo que el hospedador muestre inmunodepresión. La especie que afecta a los humanos es *P. jiroveci* y solamente en ratas se detecta *P. carinii,* que es más conocida. Hasta que surgió la epidemia de SIDA, la enfermedad en humanos se limitaba a la neumonitis intersticial por plasmacitos en lactantes malnutridos y en enfermos inmunodeprimidos (que eran sometidos a corticoterapia, tratamiento antineoplásico o que recibían trasplantes). Antes de que se introdujeran los regímenes quimioprofilácticos eficaces, constituía la principal causa de muerte en enfermos de síndrome de inmunodeficiencia adquirida. La medida mencionada ha originado una disminución impresionante en la incidencia de neumonía, pero la frecuencia de las infecciones ha aumentado en otros órganos, en particular el bazo, los ganglios linfáticos y la médula ósea.

En lo que toca a su morfología, se conocen formas diferentes de *P. jiroveci:* trofozoítos de pared delgada y quistes de pared gruesa, esféricos o elípticos (4 a 6 µm) y que contienen 4 a 8 núcleos. Los quistes captan la tinción argéntica, el azul de toluidina y el calcoflúor blanco. En muchas muestras obtenidas de humanos aparecen los trofozoítos y los quistes en una masa apiñada que probablemente traduce su forma de proliferar en el hospedador. *P. jiroveci* contiene una glucoproteína de superficie que puede detectarse en el suero de personas con un cuadro agudo o en sujetos normales.

P. jiroveci es un patógeno extracelular. Su proliferación en el pulmón se circunscribe a la capa de la sustancia tensoactiva por arriba del epitelio alveolar. En sujetos que no tienen SIDA, la infiltración de los espacios alveolares por plasmacitos culmina en neumonitis intersticial por tales células. Los plasmacitos no se detectan en la neumonía por *Pneumocystis* en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida. El bloqueo de la interfaz de intercambio de oxígeno origina cianosis. Para confirmar el diagnóstico de neumonía por *Pneumocystis*, las muestras de lavado broncoalveolar, el tejido pulmonar de biopsia o el esputo inducido se tiñen y examinan para buscar quistes o trofozoítos. Entre las tinciones adecuadas están Giemsa, azul de toluidina, metenamina argéntica y calcoflúor blanco. Se cuenta con un anticuerpo monoclonal específico para el estudio de muestras por fluorescencia directa. No se ha podido cultivar *Pneumocystis.* A pesar de no ser útil en clínica, se han utilizado métodos serológicos para corroborar la prevalencia de la infección.

Si la persona no muestra inmunodepresión, *P. jiroveci* no causa enfermedad. Las pruebas serológicas sugieren que muchos individuos se infectan desde los comienzos de la niñez y el microorganismo está distribuido a nivel mundial. Es probable que la inmunidad mediada por células intervenga de manera dominante en la resistencia a la enfermedad, dado que los sujetos con SIDA suelen tener importantes cuantificaciones de anticuerpo y no se identifica corrientemente neumonía por *Pneumocystis,* hasta que el número de linfocitos CD4 disminuye a menos de 400 células/micrómetro.

Los casos agudos de neumonía por *Pneumocystis* son tratados con trimetoprim/sulfametoxazol o isetionato de pentamidina. Se logra la profilaxis con el consumo diario del primer fármaco o el segundo en aerosol. También se cuenta con otros fármacos.

No se ha demostrado que exista un reservorio natural y el hombre pudiera ser un miembro obligado de la flora normal. A las personas en peligro se les suministran medios de quimioprofilaxis. No se sabe el mecanismo por lo cual surge la infección, y es posible que la transmisión se haga por aerosoles.

PENICILOSIS

De las innumerables especies de *Penicillium* distribuidas ampliamente en el ambiente, solamente una es dimórfica, *Penicillium marneffei*, y ha surgido como un patógeno oportunista y endémico. Se le detecta en algunas regiones del sureste de Asia, que incluyen las regiones del sureste de China, Tailandia, Vietnam, Indonesia, Hong Kong, Taiwán y el estado de Manipur de

la India. En las regiones endémicas mencionadas se ha aislado *P. marneffei* de la tierra y en particular aquella en que viven ratas de bambú y sus hábitat. A temperatura ambiental el moho prolifera rápidamente hasta transformarse en una colonia verde-amarillenta con un pigmento rojizo difusible. Las hifas ramificadas y tabicadas producen conidióforos aéreos que portan fiálides y cadenas basipétalas de conidios, similares a las estructuras de la figura 45-4. En los tejidos las hifas se transforman en microorganismos unicelulares similares a levaduras (de aproximadamente 4×6 μm), que se dividen por fisión. Los factores principales en el riesgo mayor de infección son la inmunodeficiencia por VIH/SIDA, tuberculosis, corticoterapia o enfermedades linfoproliferativas. Las manifestaciones clínicas comprenden fungemia, lesiones de la piel y afección general de múltiples órganos, en particular el sistema reticuloendotelial. Los signos y síntomas incipientes son inespecíficos y pueden comprender tos, fiebre, fatiga, adelgazamiento y linfadenopatía. Sin embargo, 70% de los pacientes, tengan o no SIDA, terminan por mostrar pápulas cutáneas o subcutáneas, pústulas o manchas situadas en la cara. El diagnóstico se puede definir partiendo de las muestras de piel, sangre o de tejidos para biopsia, por observación microscópica de células similares a levaduras, y positividad de los cultivos. El tratamiento por lo común comprende un ciclo definido de anfotericina B, seguido de itraconazol; sin él, la mortalidad rebasa el 90 por ciento.

OTRAS MICOSIS OPORTUNISTAS

Las personas con deterioro de sus defensas inmunitarias son susceptibles a infecciones por algunos de los miles de mohos sapróbicos que existen en la naturaleza y producen esporas que viajan por el aire; las micosis con tales características surgen con frecuencia menor que la candidosis, la aspergilosis y la mucormicosis porque los hongos son menos patógenos. Los progresos en la medicina han dado como consecuencia la aparición de un número cada vez mayor de enfermos con grave deterioro del sistema inmunitario, en que hongos que normalmente no son patógenos se tornan patógenos oportunistas. Especies de *Fusarium, Paecilomyces, Bipolaris, Curvularia, Alternaria,* y otras más han ocasionado infecciones generalizadas devastadoras. Algunos oportunistas se circunscriben a regiones geográficas particulares. Por ejemplo, los enfermos de SIDA en Asia se contagian de infecciones sistémicas causadas por *Penicillium marneffei,* y es un patógeno dimórfico que es endémico en esa área. Otro factor contribuyente es el uso cada vez más amplio de antibióticos antimicóticos, lo que ha originado la aparición (por selección natural) de especies y cepas resistentes de hongos.

PROFILAXIS ANTIMICÓTICA

La frecuencia de micosis por oportunistas va en aumento en enfermos inmunodeficientes, particularmente en aquellos con discrasias hematológicas (como la leucemia), personas que reciben hemoblastos, los que reciben en trasplante órganos sólidos y otros más a quienes se administran fármacos citotóxicos e inmunosupresores (como los corticoesteroides). Por ejemplo, la incidencia de micosis generalizadas en enfermos de leucemia linfocítica o mielógena aguda es de 5 a 20%, y en quienes reciben blastos alógenos, 5 a 10 por ciento. Muchos de estos enfermos de gran riesgo muestran depresión de sus defensas inmunitarias, como la disminución en el número de neutrófilos y monocitos circulantes, su funcionalidad o ambas características. Además, los enfermos de SIDA son extraordinariamente susceptibles a diversas micosis generalizadas cuando el número de sus linfocitos CD4 disminuye a menos de 200 células por mililitro cúbico.

La lista de patógenos oportunistas invasores incluye especies de *Candida, Cryptococcus, Saccharomyces* y otras levaduras; *Aspergillus* y otros mohos ascomicetos como *Fusarium, Paecilomyces* y *Scopulariopsis*; hongos dematiáceos (como algunas especies de *Bipolaris*, *Phialophora, Cladosporium)* y cigomicetos (*Rhizopus*). Suele ser difícil confirmar la identidad definitiva en los comienzos de la infección, razón por la cual muchos sujetos de alto riesgo son tratados con métodos empíricos o fin profiláctico con algunos antimicóticos. Sin embargo, no hay un consenso universal sobre el criterio de emprender la profilaxis con antimicóticos o la quimioterapia y el régimen específicos. Más bien muchos hospitales de atención especializada (terciaria) han elaborado sus propios protocolos para emprender la quimioterapia profiláctica a base de antimicóticos en enfermos muy expuestos a presentar micosis invasora. En muchos hospitales se administra miconazol ingerido, en tanto que en otros se emprende un ciclo breve con dosis pequeñas de anfotericina B. Algunos de los criterios para emprender la profilaxis antimicótica en un sujeto con una enfermedad y un cuadro subyacente o primario de alto riesgo incluyen: fiebre persistente que no mejora con los antibióticos antibacterianos; la neutropenia que dura más de siete días, la identificación de infiltrados pulmonares nuevos y no explicados, en las radiografías, o insuficiencia progresiva no explicada de órganos.

HIPERSENSIBILIDAD A HONGOS

Durante toda la vida el aparato respiratorio está expuesto a conidios y esporas de muchos hongos saprófitos que viajan por el aire; dichas partículas suelen tener potentes antígenos de superficie capaces de estimular y desencadenar intensas reacciones alérgicas. Tales respuestas de hipersensibilidad no necesitan de la proliferación y viabilidad del hongo inductor, aunque en algunos casos (aspergilosis broncopulmonar alérgica) pueden coexistir la infección y la alergia. Con base en el sitio de depósito del alergeno, el enfermo puede presentar rinitis, asma bronquial, alveolitis o neumonitis generalizada. Las personas atópicas son las más susceptibles. El diagnóstico y la magnitud de las reacciones de hipersensibilidad se pueden conocer por cutirreacciones a base de extractos del hongo. El tratamiento puede comprender la evitación del alergeno patógeno, corticoterapia o intentos de desensibilizar a los pacientes.

La exposición en espacios cerrados a gran número de esporas de hongos que viajan en el aire ha permitido identificar un cuadro descrito como el “síndrome del edificio patógeno”, en el cual la humedad en los materiales de construcción como la madera y el fibrocemento, permite la proliferación irrestricta de los mohos contaminantes. La generación y la contaminación del aire en espacios cerrados, con grandes números de conidios, ha ocasionado casos consuntivos de reacciones alérgicas o tóxicas sistémicas. A menudo la infección con el moho es tan extensa que es imposible eliminarlos con fungicidas o filtros, y muchos edificios con dichas características han terminado por ser demo-

lidos. Los mohos patógenos suelen ser ascomicetos no infectantes como *Stachybotrys, Cladosporium, Fusarium* y otros más.

MICOTOXINAS

Muchos hongos producen sustancias dañinas llamadas micotoxinas que originan intoxicaciones y lesiones agudas o crónicas. Ellas son metabolitos secundarios y sus efectos no dependen de la infección o de la viabilidad del hongo. Algunas setas producen diversas micotoxinas (como especies de *Amanita*) y su ingestión origina un cuadro llamado **micetismo** o envenenamiento por hongos. La cocción ejerce poco efecto en la potencia de las toxinas y pueden ocasionar daño grave o letal al hígado y a los riñones. Otros hongos producen compuestos mutágenos y carcinógenos que son extraordinariamente tóxicos para los animales de experimentación. Uno de los más potentes es la **aflatoxina** elaborada por *Aspergillus flavus* y hongos similares y es contaminante frecuente de cacahuates, maíz, granos y otros alimentos.

FARMACOTERAPIA ANTIMICÓTICA

Es posible utilizar un número escaso (aunque cada vez mayor) de antibióticos para combatir las micosis. Muchos tienen una o más limitaciones, como efectos secundarios profundos, un espectro antimicótico escaso, poca penetración en algunos tejidos y mutaciones de hongos resistentes por selección biológica. Están en fase de estudio nuevos fármacos promisorios y otros más en fase de investigación en seres humanos. Es difícil identificar puntos de acción idóneos en los hongos porque éstos, a semejanza de los seres humanos, son eucariotos. Muchos de los procesos celulares y moleculares son similares y suele haber homología extensa entre los genes y las proteínas.

Entre las clases de fármacos de distribución amplia están los polienos (anfotericina B y nistatina), que se fijan al ergosterol de la membrana de los hongos; la flucitosina, análogo pirimidínico; los azólicos y otros inhibidores de la síntesis de ergosterol como las alilaminas; las equinocandinas, que inhiben la síntesis de β-glucano parietal, y la griseofulvina que interviene en el ensamblado del microtúbulo. Entre los productos en investigación están los inhibidores de la síntesis de la pared del microorganismo como la nikkomicina y la pradimicina, así como la sordarina, que inhibe el factor de alargamiento 2.

En años recientes se ha incrementado el número de productos antimicóticos y están en fase de evaluación en humanos más compuestos. El cuadro 45-5 incluye un resumen selectivo de los productos disponibles. Muchos de los fármacos más nuevos son variantes de la clase de azólicos fungistáticos como los triazoles voriconazol y posaconazol. Los productos mencionados y otros nuevos fueron diseñados para mejorar la eficacia antimicótica y la farmacocinética y también disminuir el número de efectos secundarios.

Anfotericina B

Descripción

El principal antibiótico poliénico es la anfotericina B, metabolito de *Streptomyces*; es el fármaco más eficaz contra las micosis sistémicas graves. Posee espectro amplio y rara vez genera resistencia. El mecanismo de acción de los poliénicos entraña la formación de complejos con ergosterol en la membrana del hongo, lo cual la daña y permite la fuga de su contenido. La anfotericina B posee mayor afinidad por el ergosterol que por el colesterol, que es el esterol predominante en la membrana celular de mamíferos. El empacado de dicho fármaco en liposomas y emulsiones lipoídicas ha permitido obtener eficacia extraordinaria y resultados excelentes en los estudios clínicos. Las presentaciones mencionadas se pueden obtener y posiblemente sustituyan a las actuales. Los preparados lípidos son menos tóxicos y permiten el empleo de concentraciones de anfotericina B mayores.

Anfotericina B

Mecanismo de acción

La anfotericina B se administra por vía endovenosa, en la forma de micelas con desoxicolato sódico disuelto en una solución glucosada. El fármaco se distribuye ampliamente en los tejidos, pero apenas si penetra en el líquido cefalorraquídeo. Dicho producto se fija firmemente al ergosterol en la membrana celular, interacción que altera su fluidez y posiblemente origina poros en esa estructura, a través de la cual salen iones y pequeñas moléculas. A diferencia de otros antimicóticos, la anfotericina B tiene acción fungicida. Las células de mamíferos no poseen ergosterol y son relativamente resistentes a tales acciones. La anfotericina B se fija débilmente al colesterol de las membranas de células de mamíferos, interacción que pudiera explicar sus efectos tóxicos; en cantidades pequeñas tiene efecto inmunoestimulante.

Indicaciones

La anfotericina B tiene un espectro amplio y posee eficacia demostrada contra muchas de las graves micosis sistémicas que incluyen coccidioidomicosis, blastomicosis, histoplasmosis, esporotricosis, criptococosis, aspergilosis, mucormicosis y candidosis. La respuesta al fármaco es influida por la dosis y la frecuencia de administración, el sitio en que está la infección micótica, el estado inmunitario del paciente y la susceptibilidad inherente del patógeno. Es poca la penetración en las articulaciones y el sistema nervioso central, y en algunas infecciones se recomienda la administración intrarraquídea o intraarticular. El fármaco en cuestión se combina a veces con la flucitosina para tratar la criptococosis. Algunos hongos, como *Pseudallescheria boydii* y *Aspergillus terreus,* no reaccionan adecuadamente al tratamiento con anfotericina B.

CUADRO 45-5 Comparación de los antimicóticos comunes para tratar micosis sistémica

Clase y mecanismo	Fármaco	Vía	Espectro	Indicaciones	Efectos tóxicos	Comentarios
Polienos: fijan ergosterol en la membrana del hongo; inmunomodulación	Anfotericina B	IV	Amplio	Las micosis invasoras más graves	Frecuentes: nefrotoxicidad, reacciones agudas a la venoclisis, fiebre, escalofríos, anemia, alteraciones de electrólitos, y muchas más	Fungicida: la resistencia es rara
	Presentaciones lípidas de anfotericina B	IV	Amplio	Las micosis invasoras más graves	Disminución de la nefrotoxicidad; número menor de otros efectos secundarios	Alteración en la distribución tisular
Antimetabolitos: se transforman en fluorouracilo y alteran la síntesis de pirimidinas y RNA	Flucitosina	PO	Levaduras; hongos dematiáceos	Candidosis, criptococosis, feohifomicosis	Trastornos de vías GI (náusea, vómito, diarrea o ambas), neuropatía, afección de médula ósea	Es frecuente la resistencia si se usa como un solo fármaco; niveles altos en LCR y en orina. Los niveles terapéuticos se vigilan a menudo
Azólicos[b]: inhiben la síntesis de ergosterol; bloquean la desmetilación 14-α de lanosterol que depende del citocromo P450	Cetoconazol	PO, tópico	Limitado	Candidosis, dermatomicosis refractarias	Cambios hormonales, efectos tóxicos en hígado, perturbaciones de vías GI, neuropatías	Poca absorción después de ingerido
	Itraconazol	PO, IV	Amplio	Micosis endémicas, aspergilosis, candidosis, criptococosis, feohifomicosis	Cuadro leve: perturbaciones de vías GI, efectos tóxicos en hígado, neuropatía, alteraciones de médula ósea; recomendaciones muy diligentes por el riesgo de efectos tóxicos en corazón	Poca absorción particularmente en el caso de las cápsulas. La absorción es mayor si se administra en solución, pero con ella surge con mayor frecuencia diarrea. Es importante medir en forma seriada los niveles en sangre
	Fluconazol	PO, IV	Limitado	Candidosis, criptococosis	Producto comparativamente inocuo; perturbaciones de vías GI, mareos, lesiones de piel y otros signos	Absorción excelente; se utiliza ampliamente en profilaxis y terapia empírica; surge resistencia a menudo con *Candida glabrata* y *Candida krusei*
	Voriconazol	PO, IV	Amplio	Aspergilosis, candidosis, mohos raros, micosis endémicas, criptococosis, feohifomicosis	Toxicidad mínima; efectos visuales transitorios en 30%, aproximadamente, de los casos, efectos tóxicos hepáticos, alteraciones de las vías GI, erupción	Es importante medir en forma seriada las concentraciones en sangre
	Posaconazol	PO	Amplio	Similar a voriconazol y además cigomicetos	Comparativamente inocuo, perturbaciones de vías GI, cefaleas, somnolencia, mareos, fatiga, toxicidad de hígado	Varía su absorción; se ha aprobado su uso como profiláctico en algunos cancerosos
Equinocandinas: perturban la síntesis de la pared del hongo; inhiben 1,3-β-D-glucano sintasa	Caspofungina	IV	Limitado	Candidosis invasora; aspergilosis refractaria	Producto inocuo con mínimos efectos tóxicos: perturbaciones de vías GI, erupción, cefalea	Utilizado en terapia empírica
	Micafungina	IV	Limitado	Candidosis esofágica	Efectos poco frecuentes; fiebre	Utilizado como profiláctico
	Anidulafungina	IV	Limitado	Candidosis invasora	Efectos poco frecuentes	

[a]Anfotericina B, dispersión coloidal (ABCD; Amphocil™ o Amphotec™), anfotericina B, complejo lípido (ABLC; Abelcet™) y anfotericina B en liposomas (L-AMB; Ambisome™)

[b]Todos los azólicos pueden inhibir las isoenzimas de citocromo P450 del hospedador y causar interacciones diversas con otros fármacos.

Efectos secundarios

Todos los pacientes presentan reacciones adversas a la anfotericina B, aunque han disminuido enormemente con las nuevas presentaciones en lípidos. Entre las reacciones agudas que suelen surgir con la administración intravenosa del fármaco están fiebre, escalofríos, disnea e hipotensión, mismas que pueden ser aliviadas por la administración previa o simultánea de hidrocortisona o acetaminofén. Durante el tratamiento aparece tolerancia a los efectos secundarios agudos.

Los efectos secundarios crónicos por lo común son consecuencia de nefrotoxicidad. La administración del fármaco casi siempre ocasiona hiperazoemia y hay que medir con gran precisión y en forma seriada los niveles de creatinina y de iones séricos. A menudo surgen hipocaliemia, anemia, acidosis tubular renal, cefaleas, náusea y vómito. Algunos de los efectos tóxicos en riñones son reversibles, pero se sabe que disminuye en forma permanente la función glomerular y tubular de los riñones. Dicho daño pudiera guardar relación con la dosis total de anfotericina B administrada. Los efectos tóxicos disminuyen grandemente con las presentaciones lípidas del antimicótico (como Abelcet, Amfotec y AmBisome).

Flucitosina

Descripción

La flucitosina (5-fluorocitosina) es un derivado fluorado de la citosina. Es un antimicótico ingerible que se usa preferentemente junto con la anfotericina B para combatir la criptococosis o la candidosis. Es eficaz también contra muchos hongos dematiáceos. Penetra satisfactoriamente en todos los tejidos, y también en el líquido cefalorraquídeo.

Flucitosina

Mecanismo de acción

La flucitosina es transportada en forma activa al interior de los hongos por medio de una permeasa. La enzima de hongos citosina desaminasa la convierte en 5-fluorouracilo y la incorpora en el monofosfato del ácido 5-fluorodesoxiuridílico que interfiere en la actividad de la timidilato sintasa y la síntesis de ácido desoxirribonucleico. Las células de mamíferos no tienen la citosina desaminasa y por consiguiente están protegidas de los efectos tóxicos del fluorouracilo. Por desgracia, a breve plazo surgen mutantes resistentes que merman la utilidad del fármaco.

Indicaciones

La flucitosina se utiliza más bien con la anfotericina B para tratar la criptococosis y la candidosis. *In vitro* actúa en forma sinérgica con dicho antimicótico, contra los microorganismos correspondientes, y los datos de estudios en humanos sugieren un efecto beneficioso de dicha combinación, particularmente en la meningitis por criptococos. Se ha demostrado que la combinación de ambos retrasa o limita la aparición de mutantes resistentes a la flucitosina. En sí misma, la flucitosina es eficaz contra la cromoblastomicosis y otras infecciones por hongos dematiáceos.

Efectos secundarios

Es probable que la propia flucitosina genere pocos efectos tóxicos en células de mamíferos y sea relativamente bien tolerada, pero al ser convertida en fluorouracilo surge un compuesto altamente tóxico que quizá sea el que origine los efectos secundarios importantes. La administración duradera de este fármaco ocasiona supresión de médula ósea, alopecia y anormalidades de la función hepática. La conversión de flucitosina en fluorouracilo por parte de las bacterias intestinales puede causar colitis. Los pacientes de SIDA pueden ser más susceptibles a la supresión de la médula ósea por flucitosina y hay que medir con gran minuciosidad y frecuencia sus niveles en suero.

Azólicos

Descripción

Los imidazoles antimicóticos (como el cetoconazol) y los triazoles (fluconazol, voriconazol e itraconazol) son fármacos ingeribles que se usan para combatir infecciones micóticas sistémicas y localizadas de muy diversa índole (fig. 45-26). Aún están en fase de evaluación las indicaciones para usarlos, pero han remplazado a la anfotericina B para tratar muchas micosis menos graves, porque pueden administrarse por vía oral y son menos tóxicos. Otros imidazoles como el miconazol y el clotrimazol se emplean en forma tópica y serán descritos más adelante.

Mecanismo de acción

Los azólicos interfieren en la síntesis de ergosterol; bloquean la desmetilación 14α, que depende del citocromo P450, del lanosterol, precursor del ergosterol en los hongos y del colesterol en células de mamíferos. Sin embargo, los citocromos P450 de hongos son 100 a 1 000 veces más sensibles a los azólicos que los sistemas de mamíferos. Los compuestos de esta categoría han sido creados para mejorar su eficacia, disponibilidad y farmacocinética y aminorar sus efectos secundarios; son fungistáticos.

Indicaciones

Las indicaciones para utilizar los azólicos antimicóticos se ampliarán conforme se disponga de los resultados de estudios a largo plazo (y también los de los nuevos azólicos). Más adelante se incluyen las indicaciones aceptadas para utilizar los productos de esta categoría.

El cetoconazol es útil para tratar candidosis mucocutánea crónica, dermatofitosis y las formas no meníngeas de blastomicosis, coccidioidomicosis, paracoccidioidomicosis e histoplasmosis. De los compuestos de esta categoría el fluconazol es el

Clotrimazol

Miconazol

Voriconazol

Itraconazol

Cetoconazol

Fluconazol

FIGURA 45-26 Estructuras de azólicos antimicóticos. (Con autorización de Katzung BG [ed.]: *Basic and Clinical Pharmacology,* 11th ed. McGraw-Hill, 2009.)

que mejor penetra en el sistema nervioso central. Se utiliza como fármaco de sostén en la meningitis por criptococos y por coccidioides. También pueden recibirlo los sujetos con SIDA con candidosis orofaríngea y los pacientes inmunocompetentes con candidemia. El itraconazol constituye el fármaco de primera elección contra la histoplasmosis y la blastomicosis y también contra algunos casos de coccidioidomicosis, paracoccidioidomicosis y aspergilosis. Según se sabe, es eficaz para tratar la cromomicosis y la onicomicosis por dermatófitos y otros mohos. El voriconazol, que se puede administrar por vía oral o intravenosa, tiene un espectro de actividad amplio contra muchos mohos y levaduras, en particular aspergilosis, fusariosis, seudoalesqueriosis y cuadros por otros patógenos sistémicos menos frecuentes. El triazólico más nuevo es el posaconazol (fig. 45-27A), con un espectro de acción amplio y eficacia demostrada contra especies de *Candida,* aspergilosis, mucormicosis y otros mohos invasores oportunistas, todos resistentes al fluconazol. Es tolerado satisfactoriamente.

Efectos secundarios

Los efectos secundarios de los azólicos provienen más bien de su capacidad de inhibir las enzimas del citocromo P450 de mamíferos. El cetoconazol es el más tóxico y en dosis terapéuticas puede inhibir la síntesis de testosterona y de cortisol y ocasionar así diversos efectos reversibles como ginecomastia, disminución de la libido, impotencia, irregularidades menstruales y a veces insuficiencia suprarrenal. El fluconazol y el itraconazol en dosis terapéuticas recomendadas no afectan de manera significativa la esteroidogénesis de mamíferos. Todos los azólicos antimicóticos originan incrementos asintomáticos en los niveles de las pruebas de función hepática y casos ocasionales de hepatitis. El voriconazol origina deficiencia visual reversible, en aproximadamente 30% de los pacientes.

Los azólicos antimicóticos interactúan con las enzimas del citocromo P450 encargadas del metabolismo de fármacos, y por esa razón surgen algunas interacciones medicamentosas importantes. A veces aumentan las concentraciones de los azóli-

FIGURA 45-27 Nuevos antimicóticos. **A:** Posaconazol. **B:** Caspofungina. **C:** Micafungina. **D:** Terbinafina.

cos mencionados cuando se utilizan isoniazida, fenilhidantoína o rifampicina. La administración de los antimicóticos también hace que los niveles séricos de ciclosporinas, fenilhidantoína, hipoglucemiantes orales, anticoagulantes, digoxina y quizá otros más, aumenten más de lo previsto. Se necesita a veces la medición seriada de los niveles de ambos fármacos en suero para estar dentro de límites terapéuticos apropiados.

Equinocandinas

Las equinocandinas constituyen una clase nueva de antimicóticos que alteran la síntesis del polisacárido β-glucano que abunda en la pared de los hongos, al inhibir la 1,3-β-glucano sintasa y perturbar la integridad de dicha pared. La caspofungina, primer fármaco aprobado, ha sido eficaz contra aspergilosis invasora y candidosis sistémica por especies muy diversas de *Candida* (fig. 45-27B); dicho agente intravenoso puede estar indicado en particular contra la aspergilosis refractaria. La caspofungina también es tolerada satisfactoriamente.

La micafungina y la anidulafungina, dos equinocandinas de aprobación reciente similares a la caspofungina, también inhiben la síntesis de β-glucano, y su espectro de actividad contra especies de *Candida* y *Aspergillus* y otros mohos es muy similar. Los dos antimicóticos mencionados (fig. 45-27C) en fecha reciente fueron aprobados para el tratamiento de la candidosis esofágica y la profilaxis antimicótica en sujetos que recibieron hemoblastos en trasplantes. En ambos al parecer es mejor la farmacocinética y la estabilidad *in vivo*, que con la caspofungina. Estudios clínicos sugieren que serán útiles para tratar candidosis de mucosas y generalizadas, aspergilosis invasora y refractaria y en combinación con la anfotericina B, o algunos de los triazólicos más nuevos.

Griseofulvina

Es un antibiótico ingerible derivado de especies de hongos del género Penicillium. Se le utiliza para combatir dermatofitosis y es necesario administrarla por largo tiempo. Es poca la absorción del fármaco y se concentra en el estrato córneo, sitio en que inhibe la proliferación de hifas. No ejerce efecto alguno en otros hongos.

Griseofulvina

Una vez ingerida, la griseofulvina se distribuye en todo el cuerpo, pero se acumula en tejidos queratinizados. En el interior del hongo interactúa con los microtúbulos y anula la función del huso mitótico, con lo cual queda inhibida la proliferación. Afecta solamente a las hifas en fase de proliferación activa. La griseofulvina es útil en seres humanos para tratar dermatofitosis de la piel, el cabello y las uñas. Por lo común se necesita ingerirla durante meses o semanas, y por lo regular es tolerada de manera satisfactoria. El efecto adverso más común es la cefalea que muestra resolución sin interrumpir el consumo del medicamento. Otros efectos secundarios menos frecuentes son perturbaciones de vías gastrointestinales, somnolencia y hepatotoxicidad.

Terbinafina

La terbinafina es un alilamínico; bloquea la síntesis de ergosterol al inhibir la epoxidasa de escualeno (fig. 45-27D). Es un fármaco ingerible usado para tratar dermatofitosis y ha sido muy eficaz para combatir infecciones de uñas y otras dermatofitosis. Sus efectos secundarios no son frecuentes, pero comprenden molestias gastrointestinales, cefaleas, reacciones de la piel y disminución del sentido del gusto. Para el tratamiento a largo plazo de la tiña de las uñas puede administrarse la terbinafina de manera intermitente, así como el itraconazol y el fluconazol, y para ello seguir un protocolo en días alternos.

ANTIMICÓTICOS TÓPICOS

Nistatina

La nistatina es un antibiótico poliénico con algunas semejanzas estructurales con la anfotericina B y un mecanismo similar de acción. Se le puede usar para combatir candidosis locales de la boca y la vagina. También suprime la candidosis esofágica subclínica y la proliferación excesiva de *Candida* en vías gastrointestinales. No muestra absorción a nivel general ni tiene efectos secundarios. Sin embargo, es demasiado tóxica para administrarla por vía parenteral.

Clotrimazol, miconazol y otros azólicos

Se cuenta con diversos azólicos antimicóticos demasiado tóxicos para uso general, pero que se emplean en forma tópica. Se conocen varias presentaciones de clotrimazol y miconazol y también se dispone de econazol, butaconazol, tioconazol y terconazol, y todos ellos tienen eficacia similar.

Los azólicos tópicos tienen un espectro amplio de actividad y reaccionan satisfactoriamente a la aplicación de cremas o polvo, entidades como las tiñas de los pies, del cuerpo, de la ingle, la versicolor y la candidosis cutánea. La candidosis vulvovaginal se puede tratar con óvulos o cremas vaginales. También se dispone del clotrimazol en trociscos ingeribles para combatir la candidosis de la boca y del esófago en personas inmunocompetentes.

Otros antimicóticos tópicos

El tolnaftato y la naftifina son antimicóticos tópicos que se usan para tratar muchas dermatofitosis y la tiña versicolor. Sus presentaciones incluyen cremas, polvos y nebulizaciones. Se dispone de varias presentaciones del ácido undecilénico para tratar las tiñas de los pies y de la ingle. Es un fármaco eficaz y bien tolerado, pero son más eficaces los azólicos antimicóticos naftifina y tolnaftato. El haloprogin y el ciclopirox son otros agentes tópicos usados a menudo contra dermatofitosis.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. De las afirmaciones siguientes, ¿cuál es la acertada?
   (A) Todos los hongos pueden proliferar en la forma de levaduras y mohos
   (B) Los hongos son eucariotos pero no tienen mitocondrias
   (C) Los hongos son fotosintéticos
   (D) Los hongos tienen uno o más núcleos y cromosomas
   (E) Pocos hongos tienen membranas
2. De las afirmaciones relacionadas con la proliferación y la morfología de hongos, ¿cuál es la acertada?
   (A) Todas las levaduras producen seudohifas
   (B) Los mohos producen hifas que pueden o no mostrar paredes cruzadas o tabiques
   (C) Los conidios son producidos por reproducción sexual
   (D) Muchas levaduras se reproducen por gemación y no tienen paredes
   (E) Muchos mohos dimórficos patógenos producen hifas en el hospedador y levaduras a 30°C
3. De las afirmaciones siguientes relacionadas con la pared de los hongos, ¿cuál es la acertada?
   (A) Los principales componentes de las paredes de hongos son proteínas como la quitina, glucanos y mananos
   (B) La pared de los hongos no es esencial para su viabilidad o supervivencia
   (C) Los ligandos localizados en la pared de algunos hongos median su fijación a las células del hospedador
   (D) Los componentes de la pared de los hongos son los sitios de ataque de las principales clases de antibióticos antimicóticos, como los poliénicos y los azólicos
   (E) Los componentes de la pared de los hongos rara vez estimulan una respuesta inmunitaria
4. Un varón de 54 años mostró una cefalea cada vez más intensa seguida de debilidad progresiva y gradual del brazo derecho. El gammagrama del cerebro señaló la presencia de una lesión en el hemisferio izquierdo. En la operación se identificó un absceso rodeado de material granulomatoso. En los cortes de tejido del cultivo ulterior se observaron hifas tabicadas de pigmentación oscura, que denotaba feohifomicosis. ¿La especie de cuál género puede causar dicha infección?
   (A) *Aspergillus*
   (B) *Cladophialophora*
   (C) *Coccidioides*
   (D) *Malassezia*
   (E) *Sporothrix*
5. Un varón de 35 años, agricultor en la zona tropical de África occidental, presentó una pápula persistente y exfoliativa en la pierna. Diez meses más tarde apareció un nuevo brote de lesiones exfoliativas, violáceas similares a verrugas, que evolucionaron de modo lento hasta tener un aspecto de coliflor. Se hizo el diagnóstico de cromoblastomicosis (cromomicosis). De las afirmaciones siguientes en relación con dicha enfermedad, ¿cuál es la más acertada?
   (A) En los tejidos los microorganismos asumen formas esféricas, que se reproducen por fisión y muestran tabiques transversos
   (B) Los agentes causantes son miembros endógenos de la flora y de mamíferos y poseen paredes con melanina
   (C) La enfermedad es causada por una sola especie
   (D) Casi todas las infecciones son generalizadas
   (E) Casi todas las infecciones son agudas y desaparecen de manera espontánea
6. Varón VIH-positivo de 42 años, cuyo país de origen era Vietnam, pero que reside ahora en Tucson, Arizona; acude al médico por una lesión ulcerosa dolorosa en el labio superior (queilitis). Se obtuvo material para biopsia y el estudio histopatológico (con hematoxilina y eosina) indicó la presencia de estructuras esféricas (20 a 50 μm de diámetro) con paredes refractarias gruesas. Señale la enfermedad que con mayor probabilidad muestra tal signo.
   (A) Infección por *Penicillium marneffei*
   (B) Criptococosis
   (C) Blastomicosis
   (D) Coccidioidomicosis
   (E) Sin importancia diagnóstica
7. Varón de 47 años con diabetes mellitus mal controlada, que presentó la salida de material sanguinolento por la nariz, edema facial y necrosis del tabique nasal. En el cultivo de las secreciones turbias de las vías nasales se identificaron especies de *Rhizopus*. Señale cuál es la consecuencia más importante de dicho hallazgo.
   (A) No tiene importancia diagnóstica, porque dicho moho es un contaminante que viaja por el aire
   (B) Pensar en el tratamiento de mucormicosis rinocerebral (cigomicosis)
   (C) Signo que sugiere fuertemente cetoacidosis
   (D) Signo que sugiere fuertemente infección por VIH
   (E) El paciente estuvo expuesto a la contaminación por mohos en espacios cerrados
8. Un niño de ocho años muestra una lesión circular, seca, exfoliativa y pruriginosa en la pierna. Señale la importancia diagnóstica de observar hifas no pigmentadas, tabicadas y ramificadas en una preparación de hidróxido de potasio/calcoflúor blanco, de raspaduras de la lesión.
   (A) Cromomicosis
   (B) Dermatofitosis
   (C) Feohifomicosis
   (D) Esporotricosis
   (E) Sin importancia diagnóstica
9. Entre los planteamientos siguientes sobre los epidemiología de la candidosis, ¿cuál es el acertado?
   (A) Los enfermos que reciben médula ósea en trasplante no están en peligro de presentar candidosis generalizada
   (B) Los enfermos en que hay disminución del número de neutrófilos y monocitos o llegan a niveles pequeños no están expuestos al riesgo de candidosis generalizada
   (C) Los sujetos con cualquier forma de diabetes tienen una mayor resistencia a la candidosis
   (D) Los enfermos de SIDA a menudo presentan candidosis mucocutánea como el algodoncillo
   (E) El embarazo disminuye el riesgo de vaginitis por candida
10. De las afirmaciones siguientes respecto a las dermatofitosis, ¿cuál es la acertada?
   (A) Las infecciones crónicas son causadas por dermatofitos zoófilos, como *Microsporum canis*
   (B) Las infecciones agudas son causadas por dermatofitos zoófilos como *Microsporum canis*
   (C) Las infecciones crónicas son causadas por dermatofitos antropófilos como *Microsporum canis*
   (D) Las infecciones agudas son causadas por dermatofitos antropófilos como *Microsporum canis*
11. De las afirmaciones siguientes en cuanto a la identificación de hongos por medio de laboratorio, ¿cuál es la acertada?
   (A) De forma típica, *Histoplasma capsulatum* necesita menos de 48 h de incubación para que los cultivos de muestras clínicas sean positivos

(B) Muchos mohos sapróbicos (no patógenos) se asemejan a los agentes micóticos dimórficos en cultivos a 30°C, razón por la cual la identificación de los supuestos hongos patógenos dimórficos debe confirmarse por la conversión *in vitro* a la forma tisular o por la detección de antígenos específicos de cada especie o el análisis de la secuencia de DNA
(C) De forma sistemática se define la especie de los mohos por medio de una batería de pruebas fisiológicas como la capacidad de asimilar diversos azúcares
(D) La prueba positiva que identifica tubos germinativos permite la identificación presuncional rápida de *Candida glabrata*
(E) Son típicas de *Pneumocystis jiroveci* la presencia de levaduras en gemación y abundantes seudohifas

12. Una sexoservidora de 29 años que provino del sur de California se quejó de cefaleas, mareos y a veces crisis de "flotar en el espacio" en las últimas dos semanas. En el estudio de líquido obtenido por tensión lumbar se identificó un menor nivel de glucosa, aumento de proteínas y 450 mononucleares por mililitro. Era seropositiva respecto a VIH. Sus antecedentes son compatibles con meningitis micótica causada por *Cryptococcus neoformans, Coccidioides posadasii,* o una especie de *Candida.* De los estudios siguientes, ¿cuál sería confirmatorio?
(A) La meningitis por *Coccidioides posadasii* podría confirmarse por la positividad del antígeno capsular de criptococos en el líquido cefalorraquídeo
(B) La meningitis por *Cryptococcus neoformans* se confirmaría por la positividad de anticuerpos por fijación de complemento contra la coccidioidina en LCR
(C) La meningitis por una especie de *Candida* se confirmaría por la observación microscópica de levaduras ovales y seudohifas en LCR
(D) La meningitis por *Coccidioides posadasii* se confirmaría por la positividad de una cutirreacción a la coccidioidina

13. De las afirmaciones respecto a la feohifomicosis, ¿cuál es la acertada?
(A) La infección sólo afecta a enfermos inmunocompetentes
(B) En el tejido infectado se identifican hifas no pigmentadas, tabicadas y ramificadas
(C) Los agentes causales son miembros de la flora microbiana normal y se les identifica fácilmente en la piel y la mucosa de sujetos sanos
(D) La feohifomicosis muestra algunas manifestaciones clínicas como ataque subcutáneo o generalizado y también sinusitis
(E) Los enfermos rara vez mejoran con la administración de itraconazol

14. Varón de 37 años con SIDA que en la actualidad vive en Indianápolis, Indiana, acudió al médico, con osteomielitis de la cadera izquierda. Se obtuvo médula ósea por medio de aguja de biopsia y en la extensión teñida con calcoflúor blanco se identificaron células mielógenas, monocitos y macrófagos que contenían innumerables levaduras intracelulares, elípticas y que medían 2×4 µm, en promedio. Señale la entidad diagnóstica más probable
(A) Blastomicosis
(B) Candidosis
(C) Criptococosis
(D) Histoplasmosis
(E) Sin importancia diagnóstica

15. El estudio de esputo tratado con hidróxido de potasio obtenido de un sujeto a quien se le trasplantó el corazón y que muestra infiltrados pulmonares y fiebre, contiene levaduras gemantes ovales y seudohifas. Señale la entidad diagnóstica más probable
(A) Aspergilosis
(B) Candidosis
(C) Hialohifomicosis
(D) Feohifomicosis
(E) Sin importancia diagnóstica

16. Varón en etapa media de la vida residente del sur de California, a quien se hizo un trasplante de hígado. En los meses siguientes al injerto, poco a poco presentó fatiga, adelgazamiento, tos, sudación nocturna, disnea y un nódulo subcutáneo en la nariz que no curaba. En la radiografía de tórax se observaron linfadenopatía hiliar e infiltrados difusos. No se identificaron microorganismos en el estudio directo y el cultivo de la muestra de vías respiratorias. Fueron negativas las cutirreacciones con PPD, blastomicina, coccidioidina e histoplasmina. Los resultados de estudios serológicos fueron los siguientes: negatividad del antígeno capsular de criptococo en la sangre; positividad de la prueba de inmunodifusión en relación con las precipitinas séricas al antígeno F del hongo y negatividad de estudios de inmunodifusión en busca de precipitinas a los antígenos h, m y A. No se identificó *Blastomyces dermatitidis* por métodos séricos en busca de anticuerpos a la fijación de complemento del hongo y también a los antígenos de micelios y levaduras de *Histoplasma capsulatum,* pero con la coccidioidina se obtuvo una cuantificación de 1:32. Señale la interpretación de los datos anteriores que sea la más sostenible.
(A) Los datos clínicos y serológicos no son concluyentes
(B) Los datos clínicos y serológicos concuerdan más bien con histoplasmosis diseminada activa
(C) Los datos clínicos y serológicos concuerdan más bien con blastomicosis diseminada activa
(D) Los datos clínicos y serológicos concuerdan más bien con coccidioidomicosis diseminada activa
(E) Los datos clínicos y serológicos descartan el diagnóstico de blastomicosis, histoplasmosis y coccidioidomicosis

17. De las afirmaciones sobre aspergilosis que se presentan, ¿cuál es la acertada?
(A) Los enfermos de aspergilosis broncopulmonar alérgica rara vez muestran eosinofilia
(B) Los pacientes sometidos a corticoterapia parenteral no están en peligro de aspergilosis invasora
(C) El diagnóstico de aspergilosis pulmonar suele corroborarse por medio del cultivo de *Aspergillus* del esputo y la sangre
(D) Entre las manifestaciones clínicas de la aspergilosis están las infecciones locales, del oído, la córnea, las uñas y los senos paranasales
(E) Las personas que han recibido médula ósea en trasplante no están en peligro de presentar aspergilosis invasora

18. De las afirmaciones siguientes respecto a la esporotricosis, ¿cuál es la acertada?
(A) La causa más frecuente es *Pseudallescheria boydii* (*Scedosporium apiospermum*)
(B) La causa es un hongo dimórfico
(C) Se desconoce la ecología del agente causante
(D) Muchos de los casos son subcutáneos y no linfangíticos
(E) Muchos pacientes muestran inmunodepresión

19. Un migrante trabajador de 24 años proveniente de Colombia es VIH-negativo, acudió al médico por una lesión ulcerada dolorosa en la lengua. El médico raspó con suavidad el borde de la lesión y en la extensión preparada con hidróxido de potasio y teñida con calcoflúor blanco se identificaron células de tejido, restos y algunas grandes levaduras esféricas gemantes en multiplicación. Con base en la observación anterior, ¿cuál es la entidad diagnóstica más probable?
(A) Blastomicosis
(B) Candidosis

(C) Coccidioidomicosis
(D) Histoplasmosis
(E) Paracoccidioidomicosis

20. De las afirmaciones sobre la blastomicosis siguientes, ¿cuál es la acertada?
    (A) La infección en cuestión, en forma semejante a como se observa a otras micosis endémicas, afecta por igual a varones y mujeres
    (B) La infección comienza en la piel y los microorganismos se diseminan a los pulmones, los huesos, el aparato genitourinario y otros sitios
    (C) La enfermedad es endémica en algunas zonas de América del Sur
    (D) En los tejidos se identifican grandes levaduras monogemantes de pared gruesa, con conexiones amplias entre la levadura y la yema
    (E) En todos los casos se necesita el tratamiento con anfotericina B
21. De las afirmaciones siguientes respecto a las dermatofitosis, ¿cuál es la acertada?
    (A) Las infecciones crónicas son causadas por dermatofitos zoófilos como *Trichophyton rubrum*
    (B) Las infecciones agudas son causadas por dermatofitos zoófilos como *Trichophyton rubrum*
    (C) Las infecciones crónicas son causadas por dermatofitos antropófilos como *Trichophyton rubrum*
    (D) Las infecciones agudas son causadas por dermatofitos antropófilos como *Trichophyton rubrum*
22. De las afirmaciones siguientes respecto a la paracoccidioidomicosis, ¿cuál no es acertada?
    (A) El agente etiológico es un hongo dimórfico
    (B) Muchos de los pacientes son contagiados de su infección después de estar en América del Sur
    (C) La infección se contagia por inhalación y comienza en los pulmones, pero muchos enfermos terminan por mostrar lesiones cutáneas y mucocutáneas
    (D) La mayor parte de los sujetos con enfermedad activa son varones
    (E) De manera inherente el agente etiológico es resistente a la anfotericina B
23. Un paciente que ha recibido un riñón en trasplante presenta candidosis generalizada nosocomial, pero *Candida glabrata* aislada en el paciente es resistente al fluconazol. Una alternativa razonable sería la administración oral de
    (A) Flucitosina
    (B) Posaconazol
    (C) Griseofulvina
    (D) Anfotericina B
24. De los antimicóticos siguientes, ¿cuál no afecta la biosíntesis del ergosterol en la membrana del hongo?
    (A) Voriconazol
    (B) Itraconazol
    (C) Terbinafina
    (D) Fluconazol
    (E) Micafungina
25. De las levaduras patógenas siguientes, ¿cuál no es un miembro frecuente de la flora humana normal o microbiota?
    (A) *Candida tropicalis*
    (B) *Malassezia globosa*
    (C) *Cyptococcus neoformans*
    (D) *Candida glabrata*
    (E) *Candida albicans*

Respuestas

1. D	8. B	15. E	22. E
2. B	9. D	16. D	23. B
3. C	10. B	17. D	24. E
4. B	11. B	18. B	25. C
5. A	12. C	19. E	
6. D	13. D	20. D	
7. B	14. D	21. C	

BIBLIOGRAFÍA

Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA: *Clinical Mycology*. Philadelphia, Churchill Livingstone, 2003.

Andes DR: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antifungals. Infect Dis Clin N Am 2006;20:679.

Ben-Ami R, Lewis RE, Raad II, Kontoyiannis DP: Phaeohyphomycosis in a tertiary care cancer center. Clin Infect Dis 2009;48:1033.

Borman AM, Campbell CK, Fraser M, Johnson EM: Analysis of the dermatophyte species isolated in the British Isles between 1980 and 2005 and review of worldwide dermatophyte trends over the last three decades. Med Mycol 2007;45:131.

Bradsher RW, Jr, Chapman SW, Pappas PG: Blastomycosis. Infect Dis Clin N Am 2003;17:21.

Calderone RA (editor): *Candida and Candidiasis*. Washington, DC: ASM Press, 2002.

Cappelletty D, Eiselstein-McKitrick K: The echinocandins. Pharmacother 2007;27:369.

Chayakulkeeree M, Perfect JR: Cryptococcosis. Infect Dis Clin N Am 2006;20:507.

Clemons KV et al (editors): Third Advances Against Aspergillosis. Med Mycol 2009;47(Suppl 1):S1.

Cohen J, Powderly WG (editors): Chapters 237–241. *Infectious Diseases,* 2nd ed, 2 vols. London, Mosby, pp 2341–2411, 2004.

Cooper CR Jr, Haycocks NG: *Penicillium marneffei*: An insurgent species among the penicillia. J Eukaryot Microbiol 2000;47:24.

da Rosa AC, Scroferneker ML, Vettorato R, Gervini RL, Vettorato G, Weber A: Epidemiology of sporotrichosis: A study of 304 cases in Brazil. J Am Acad Dermatol 2005;52:451.

de Camargo ZP, de Franco MF: Current knowledge on pathogenesis and immunodiagnosis of paracoccidioidomycosis. Rev Iberoam Micol 2000;17:41.

Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD: *Clinical Mycology*. New York, Oxford University Press, 2003.

Ferguson BJ (editor): Fungal rhinosinusitis: A spectrum of disease. Otolaryngol Clin N Am 2000;33:1.

Freifeld AG et al: Voriconazole use for endemic fungal infections. Antimicrob Agents Chemother 2009;53:1648.

Galgiani JN et al: Coccidioidomycosis. Clin Infect Dis 2005;41:1217.

Hope WW, Shoham S, Walsh TJ: The pharmacology and clinical use of caspofungin. Expert Opin Drug Metab Toxicol 2007;3:263.

Kauffman CA, Carver PL: Update on echinocandin antifungals. Semin Respir Crit Care Med 2008;29:211.

Kauffman CA: Endemic mycoses: Blastomycosis, histoplasmosis, and sporotrichosis. Infect Dis Clin N Am 2006;20:645.

Kim R, Khachikian D, Reboli AC: A comparative evaluation of properties and clinical efficacy of the echinocandins. Expert Opin Pharmacother 2007;8:1479.

Letsher-Bru V, Herbrecht R: Caspofungin: the first representative of a new antifungal class. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2003;51:513.

Lupi O, Tyring SK, McGinnis MR: Tropical dermatology: Fungal tropical diseases. J Am Acad Dermatol 2005;53:931.
Merz WG, Hay RJ (editors): *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections,* 10th ed, vol 4 *Medical Mycology.* London, Arnold, 2005.
Moen MD, Lyseng-Williamson KA, Scott LJ: Liposomal amphotericin B: A review of its use as empirical therapy in febrile neutropenia and in the treatment of invasive fungal infections. Drugs 2009;69:361.
Mohindra S, Mohindra S, Gupta R, Bakshi J, Gupta SK. Rhinocerebral mucormycosis: The disease spectrum in 27 patients. Mycoses 2007;50:290.
Nucci M, Anaissie EJ: *Fusarium* infections in immunocompromised patients. Clin Microbiol Rev 2007;20:695.
Perlroth J, Choi B, Spellberg BJ: Nosocomial fungal infections: Epidemiology, diagnosis, and treatment. Med Mycol 2007;45:321.
Pyrgos V, Shoham S, Walsh TJ: Pulmonary zygomycosis. Semin Respir Crit Care Med 2008;29:111.
Queiroz-Telles F, Esterre P, Perez-Blanco M, Vitale RG, Salgado CG, Bonifaz A: Chromoblastomycosis: An overview of clinical manifestations, diagnosis and treatment. Med Mycol 2009;47:3.
Revankar SG: Dematiaceous fungi. Mycoses 2007;50:91.
Ribes JA, Vanover-Sams CL, Baker DJ: Zygomycetes in human disease. Clin Microbiol Rev 2000;13:236.
Richardson MD, Lass-Flörl C: Changing epidemiology of systemic fungal infections. Clin Microbiol Infect 2008;14(Suppl.4):5.
Sobel JD. Vulvovaginal candidosis. Lancet 2007;369:1961.
Weitzman I, Summerbell RC: The dermatophytes. Clin Microbiol Rev 1995;8:240.
Wheat LJ, Kauffman CA: Histoplasmosis. Infect Dis Clin N Am 2003;17:1.

CAPÍTULO

46

Parasitología médica

Judy A. Sakanari, PhD y James H. MacKerrow, MD, PhD

En este capítulo se proporciona un breve estudio de los parásitos protozoos y helmintos de importancia médica. La descripción de cada uno incluye una sinopsis en forma de cuadros organizados por sistemas orgánicos infectados (p. ej., infecciones por protozoos o por helmintos, tanto de intestinos como de sangre y tejidos). Al comenzar las secciones sobre protozoos y helmintos se proporcionan conceptos básicos para que el lector cuente con un panorama de los ejemplos más importantes en la parasitología clínica.

CLASIFICACIÓN DE LOS PARÁSITOS

Los parásitos que se describen en este capítulo se dividen en dos grandes grupos: los **protozoos** y los **helmintos**, con características propias.

Los **protozoos** son células eucariotas unicelulares que forman un reino completo. Clasificar a los protozoos parásitos en grupos taxonómicos es una tarea constante y los datos de esta categoría siempre cambian. Por tal razón, el capítulo presente diferencia los protozoos parásitos en cuatro grupos "tradicionales" con base en sus medios de locomoción y su forma de reproducción: flagelados, amebas, esporozoos y ciliados. El cuadro 46-1 incluye algunos protozoos parásitos de importancia en medicina, subdivididos con arreglo a los sistemas orgánicos que infectan, los mecanismos de infección, el diagnóstico, el tratamiento y la localización geográfica.

1) Los **flagelados** tienen uno o más flagelos "a manera de látigo" y en algunos casos una membrana ondulatoria (p. ej., tripanosomas). Incluyen los flagelados de vías intestinales y genitourinarias (*Giardia* y *Trichomonas*, respectivamente) y los que penetran en la sangre y los tejidos (*Trypanosoma* y *Leishmania*). **2)** Las **amebas** tienen esa forma ameboide característica y utilizan seudópodos formados del flujo protoplásmico para desplazarse. En los seres humanos están representados por especies de *Entamoeba*, *Naegleria* y *Acanthamoeba*. **3)** Los **esporozoos** muestran un ciclo vital complejo en que alternan fases reproductivas sexual y asexual. En los parásitos de humanos *Cryptosporidium*, *Cyclospora* y *Toxoplasma* y los del paludismo (especies de *Plasmodium*), son intracelulares. **4)** Los **ciliados** son protozoos complejos que tienen cilios distribuidos en hileras o zonas localizadas y cada individuo posee dos tipos de núcleos. El único representante de este grupo que afecta a seres humanos es el parásito *Balantidium coli*, un ciliado intestinal gigante que también habita en cerdos, y dado que su ataque es raro, no se le expone en este capítulo.

Los **microsporidios**, antes clasificados como esporozoos porque poseen filamentos polares dentro de una espora, incluyen más de 1 000 especies de parásitos intracelulares que infectan hospedadores invertebrados (insectos, en su mayor parte) y vertebrados. En las personas los microsporidios son parásitos oportunistas que afectan a inmunodeficientes, incluidos quienes reciben quimioterapia y algún órgano en trasplante.

Desde hace mucho se consideró como protozoo parásito a *Pneumocystis carinii*, pero se ha demostrado que es un miembro del grupo de los hongos y no de los protozoos. Causa neumonitis intersticial por plasmacitos en personas inmunodeprimidas y se le considera como un patógeno oportunista.

Los **helmintos parásitos** o gusanos de seres humanos pertenecen a dos tipos: nematodos o vermes redondos, y platelmintos o vermes planos.

Los **nematodos** constituyen un tipo de organismos con muchas especies y que afectan animales diversos. Su aspecto es alargado y ahusado en ambos extremos; en el corte transversal son redondos y no segmentados. Poseen sólo un conjunto de músculos longitudinales que les permiten desplazarse de manera

CUADRO 46-1 Sinopsis de infecciones de sistemas orgánicos, por protozoos

Parásito/enfermedad	Sitio de infección	Mecanismo de infección	Medios para el diagnóstico	Tratamiento	Área geográfica
Protozoos intestinales					
Giardia lamblia (flagelado) Giardiosis	Intestino delgado	Ingestión de quistes en el agua, que no los destruye la cloración normal	Estudio de heces en busca de huevos y parásitos; práctica de EIA, en busca de antígenos	Metronidazol o quinacrina	Distribución amplia: excursionistas en tiendas de campaña en centros de esquí, perros, animales salvajes y en particular castores
Entamoeba histolytica (ameba) Amebosis	Colon; hígado; otros órganos	Ingestión de quistes por contaminación de agua o alimentos con heces o anilingus	Estudio de las heces en busca de huevos y parásitos; práctica de EIA en busca de anticuerpos y antígenos	Yodoquinol, furoato de diloxamida, metronidazol y además yodoquinol y paromomicina	Todo el planeta, siempre que se produzca contaminación con heces
Cryptosporidium (esporozoo) Criptosporidiosis	Intestino delgado; vías respiratorias	Ingestión de ovoquistes; contaminación por heces	Estudio de heces/tinción, en busca de microorganismos acidorresistentes; tinción por fluorescencia directa; práctica de EIA en busca de antígenos; PCR	Nitazoxanida para personas no infectadas por VIH	Distribución muy amplia, en particular en zonas ganaderas
Cyclospora (esporozoo) Ciclosporidiosis	Intestino delgado	Ovoquistes por contaminación de agua con heces; productos vegetales	Estudio de heces; tinción en busca de microorganismos acidorresistentes, microscopia por fluorescencia UV	Trimetoprim/sulfametoxazol	A nivel mundial, trópicos y zonas subtropicales
Protozoos transmitidos por contacto sexual					
Trichomonas vaginalis (flagelados) Tricomonosis	Vagina; los varones por lo común no muestran síntomas	Los trofozoítos pasan de una persona a otra por coito o actividad sexual	Examen microscópico de secreción, orina y tejido obtenido por raspado	Metronidazol en ambos participantes	Muy frecuente en poblaciones sexualmente activas
Flagelados de sangre y tejidos					
Trypanosoma brucei rhodesiense Tripanosomosis africana del este, efermedad del sueño	Sangre y linfa	Picadura de mosca tse-tse (dolorosa) que lacera la piel y libera tripomastigotes	Tripomastigotes (vía extracelular) en extensiones de sangre, LCR o material de aspiración de ganglio linfático; estudio serológico (CATT)	Etapa hemolítica: suramina Ataque tardío del SNC: melarsoprol	De África Oriental; antílopes de varios tipos constituyen reservorios animales de infección del ser humano
Trypanosoma brucei gambiense Tripanosomosis de África Occidental, enfermedad del sueño	Sangre, linfa	Picadura de la mosca tse-tse (dolorosa) desgarra la piel y libera tripomastigotes	Tripomastigotes (extracelulares) en extensión de sangre, LCR o material de aspiración de ganglio linfático; estudio serológico (CATT)	Etapa hemolítica: pentamidina Ataque tardío del SNC: eflornitina	De África Occidental: vegetación alrededor de ríos; humanos solamente (no es un trastorno zoonótico)
Trypanosoma cruzi Enfermedad de Chagas	Amastigotes intracelulares; corazón, ganglios parasimpáticos	Las heces de chinches besadoras se frotan en la zona de picadura o un ojo; transfusión de sangre; transmisión transplacentaria	Trofomastigotes (extracelular); en extensión de sangre; PCR; amastigotes intracelulares en biopsia de tejidos	Nifurtimox	América del Norte, Centro y Sur (los insectos viven en techos de paja y grietas de adobe de paredes)
Leishmania major *Leishmania tropica* Leishmaniosis cutánea del Viejo Mundo	Piel; úlceras con bordes "enrollados"	La mosca de la arena inyecta promastigotes; amastigotes en macrófagos y monocitos	Biopsia de piel obtenida del borde de la úlcera; estudio histopatológico; cultivo y PCR de los microorganismos; cutirreacción intradérmica con leishmanina (Montenegro)	Estibogluconato sódico, antimoniato de meglumina, pentamidina (todas por vías IM o IV)	Viejo Mundo: Oriente Medio, India, África, Rusia

Complejo de *Leishmania mexicana* Leishmaniosis cutánea del Nuevo Mundo	Piel; úlcera con borde “enrollado”	La mosca de la arena inyecta promastigotes; amastigotes en macrófagos y monocitos	Biopsia de piel obtenida en el borde de la úlcera; estudio histopatológico; cultivo y PCR de los microorganismos; cutirreacción intradérmica con leishmanina (Montenegro)	Estibogluconato sódico; antimoniato de meglumina; pentamidina (todas por vías IM o IV)	Nuevo Mundo: México, América Central y del Sur; úlceras de chiclero en la oreja de los chicleros en Yucatán; leishmaniosis diseminada en Etiopía y Venezuela induce alergia específica (síndrome característico)
Leishmania aethiopica, Leishmania mexicana pifanoi Forma diseminada o difusa de leishmaniosis cutánea	Piel; la alergia origina lesiones no ulceradas en todo el cuerpo	La mosca de la arena inyecta promastigotes; amastigotes en macrófagos y monocitos	Biopsia de piel obtenida del borde de la úlcera; estudios histopatológicos; cultivo y PCR de microorganismos, cutirreacción intradérmica con leishmanina (Montenegro)	Estibogluconato sódico, antimoniato de pentamidina (todas por vías IM o IV)	Viejo Mundo: Etiopía Nuevo Mundo: Venezuela
Leishmania braziliensis (complejo) Leishmaniosis mucocutánea	Lesiones de la piel; puede destruir tejidos mucocutáneos de la cara y la boca	La mosca de la arena inyecta promastigotes; amastigotes en macrófagos, monocitos	Biopsia de piel obtenida del borde de la úlcera; estudios histopatológicos; cultivo en PCR de microorganismos; cutirreacción intradérmica con leishmanina (Montenegro)	Estibogluconato sódico (por vías IM o IV); antimoniato de meglumina (IM o IV), anfotericina B (IV)	Brasil, Perú, Bolivia
Leishmania donovani Kala-azar, leishmaniosis visceral		La mosca de arena inyecta promastigotes; amastigotes en macrófagos y monocitos del bazo, hígado y médula ósea	Biopsia de bazo, hígado, material de aspiración de médula ósea; estudios histopatológicos; cultivo y PCR de microorganismos	Anfotericina B en liposomas (IV); estibogluconato sódico (IM o IV); antimoniato de meglumina (IM o IV), anfotericina B (IV)	Leishmaniosis dérmica después de kala-azar 1 a 3 años después del tratamiento en India, China, costas del Mediterráneo, Rusia, cuenca amazónica, Sudán, Kenia y América del Sur
Amebas tisulares					
Naegleria Acanthamoeba, Balamuthia Meningoencefalitis amebiana primaria (*Entamoeba histolytica* —amebosis; véase protozoos intestinales)	Cerebro, médula espinal, ojos	Nadar en agua dulce tibia, estanques, ríos, fuentes termales; las amibas libres penetran la membrana nasal, pasan al cerebro o en una herida o penetran el ojo (*Acanthamoeba*)	Trofozoítos en líquido cefalorraquídeo; sospecha clínica basada en el antecedente reciente de nadar o bucear en aguas tibias	Anfotericina B: intrarraquídea+IV	Sitios en que sobreviven amebas libres en sedimentos de aguas dulces
Esporozoos de sangre y tejidos					
Plasmodium vivax Paludismo de tercianas benigno	Intracelular en eritrocitos; los hipnozoítos en el hígado pueden causar recidivas	El mosquito hembra *Anopheles* libera esporozoítos en la corriente sanguínea; los parásitos penetran en el hígado y después en la sangre; el trastorno puede recidivar	Extensiones de sangre en gota gruesa y fina; etapa anular; eritrocitos con puntos de Schüffner	Cloroquina[a] (en casos en que no ha surgido resistencia); en otras situaciones mefloquina o atovacuona/proguanil, seguidos por primaquina contra recidiva	Trópicos, África (rara en África Occidental), Oriente Medio, Asia, América del Centro y del Sur

(*continúa*)

CUADRO 46-1 Sinopsis de infecciones de sistemas orgánicos, por protozoos (*Continuación*)

Parásito/enfermedad	Sitio de infección	Mecanismo de infección	Medios para el diagnóstico	Tratamiento	Área geográfica
Plasmodium falciparum Tercianas malignas	Intracelular en eritrocitos	El mosquito hembra *Anopheles* libera esporozoítos en la corriente sanguínea; los parásitos penetran el hígado y después la sangre, no hay recidivas	Extensiones de gota gruesa y fina de sangre; gametocitos en forma de banana; anillos dobles en eritrocitos	Cloroquina (si el sujeto no generó resistencia); sulfato de quinina y además doxiciclina o además tetraciclina o además clindamicina; atovacuona/proguanil, mefloquina, artesunato[b] y además doxiciclina o clindamicina; coartemeter/lumefantrina (coartem)	Especie predominante; trópicos a nivel mundial pero en particular en países subsaharianos
Plasmodium ovale Paludismo por *P. ovale*	Intracelular en eritrocitos; los hipnozoítos en el hígado pueden ocasionar recidiva	El mosquito hembra *Anopheles* libera esporozoítos en la corriente sanguínea; los parásitos penetran el hígado y después en la sangre; puede haber recidiva	Extensiones de gota gruesa y fina de sangre	Cloroquina (si el sujeto no es resistente); primaquina en caso de recidiva	Trópicos, África subsahariana
Plasmodium malariae Cuartana o paludismo por *P. malariae*	Intracelular en eritrocitos; los hipnozoítos en hígado pueden ocasionar recidiva	El parásito penetra en el hígado por inoculación en la corriente sanguínea por parte del mosquito infectado; no hay recidiva	Extensiones de gota gruesa y fina de sangre	Cloroquina (si el sujeto no es resistente)	Trópicos, África y América del Sur
Babesia microti Babesiosis	Intracelular en eritrocitos	Mordedura de garrapata; transfusiones sanguíneas	Extensiones de sangre; se forman tétradas (cruz de Malta) en el interior de eritrocitos	Clindamicina y además quinina; atovacuona y además azitromicina	Estados Unidos (Maryland, Nueva York, Connecticut, Nueva Jersey, Wisconsin, Georgia y California); Europa
Toxoplasma gondii Toxoplasmosis	Intracelular, en SNC, médula ósea	Ingestión de parásitos en carne mal cocida, ingestión de ovoquistes de heces de gatos; vía transplacentaria; transfusión de sangre	Estudios serológicos (IgG y IgM)	Pirimetamina y además sulfadiazina	A nivel mundial; áreas en que viven gatos y felinos

CATT, prueba de aglutinación de tarjeta, en busca de tripanosomas; SNC, sistema nervioso central; EIA, enzimoinmunoanálisis; IM, intramuscular; IV, intravenoso; PCR, reacción en cadena de la polimerasa.

[a]Es importante revisar con regularidad las recomendaciones (Teléfono: 877-FYI-TRIP; Internet: www.cdc.gov/travel/).

[b]Consúltese el trabajo de Rosenthal PJ 2009 para una revisión del tratamiento antipalúdico.

penetrante "como un látigo"; un aparato digestivo completo adaptado de modo apropiado para la ingestión del contenido intestinal, las células, la sangre o productos de degradación celular del hospedador, y un aparato reproductor muy desarrollado diferenciado en sexos. De ellos se desprenden sus cutículas resistentes (descamación o muda) al pasar de larvas a formas adultas y los huevos y las larvas están perfectamente adaptados para sobrevivir en el entorno externo. Los humanos adquieren las infecciones por estos parásitos por la ingestión de huevos o larvas, pero las infecciones por nematodos también se producen por la participación de insectos vectores y penetración de la piel. **2)** Los **platelmintos** son gusanos o vermes aplanados dorsoventralmente en el corte transversal, y son hermafroditas, con pocas excepciones. Todas las especies de importancia en medicina pertenecen a dos clases: **trematodos** (duelas) y **cestodos** (tenias).

Los **trematodos**, en forma típica, son aplanados y su aspecto es foliáceo con dos ventosas musculares. Poseen un intestino bifurcado y músculos circulares y longitudinales; no tienen la cutícula que es característica de los nematodos y en vez de ella tienen un epitelio sincitial. Son hermafroditas, con excepción de los esquistosomas o duelas hemáticas, que tienen vermes macho y hembra que coexisten acoplados dentro de los vasos finos de sus hospedadores.

El ciclo vital de los trematodos en los seres humanos comienza en forma típica cuando el individuo expulsa huevos del parásito y llegan al agua potable por las heces o la orina. En ambas se desarrollan, eclosionan y liberan un miracidio ciliado que infecta a un caracol hospedador que es absolutamente específico para cada especie de la duela. Dentro del molusco, el miracidio se transforma en esporocisto, que contiene células germinales que llegarán finalmente a la etapa larvaria, la de las cercarias. Éstas salen del caracol, nadan y se enquistan en la forma de metacercarias en un segundo hospedador intermedio o en vegetación, según la especie. Muchas de las infecciones por duelas se adquieren por ingestión de las metacercarias. Sin embargo, las cercarias de los esquistosomas penetran directamente la piel de sus hospedadores y no se enquistan como lo hacen las metacercarias.

Los **cestodos**, o vermes planos, tienen tal característica y poseen una serie de segmentos acintados (proglótides), que contienen las estructuras reproductivas masculina y femenina. Los cestodos adultos pueden llegar a tener 10 metros de longitud y cientos de segmentos, y cada segmento liberará miles de huevos. En el extremo anterior de un cestodo adulto está el escólex, que suele poseer ventosas musculares, ganchos o estructuras que facilitan su capacidad de fijarse a la pared intestinal. Los cestodos adultos no poseen boca ni intestino y absorben los nutrientes de manera directa de su hospedador a través de su integumento.

El ciclo vital de los cestodos, a semejanza de los trematodos, suele ser indirecto (incluye uno o más hospedadores intermedios y otro más final). Los huevos son excretados con las heces, y los ingiere el hospedador intermedio (un invertebrado, como una pulga o un vertebrado, como un mamífero); las larvas asumen algunas formas que son peculiares de cada especie, en el interior del hospedador intermedio (p. ej., el cisticerco en el caso de *Taenia solium*, o el quiste hidatídico en el caso de *Echinococcus granulosus*). Las larvas de cestodos por lo común son ingeridas y se transforman en un verme adulto en el intestino del hospedador final o definitivo.

INFECCIONES INTESTINALES POR PROTOZOOS

En los cuadros 46-2 y 46-3 se incluyen conceptos básicos sobre protozoos parásitos y protozoos en general. En el cuadro 46-1 se hace una sinopsis de las parasitosis por protozoos.

GIARDIA LAMBLIA (FLAGELADO INTESTINAL)

Microorganismo

Giardia lamblia (conocida también como *Giardia duodenalis* o *Giardia intestinalis*) es el agente causal de la giardiosis y el único protozoo patógeno que aparece a menudo en el duodeno y en el yeyuno de los seres humanos. *Giardia* existe en dos formas: el trofozoíto y el quiste. El primero es un microorganismo en forma de corazón, con cuatro pares de flagelos y tiene 15 μm, aproximadamente, de longitud (fig. 46-1A). El gran disco cóncavo para succión en la cara ventral hace que el microorganismo se adhiera fácilmente a las vellosidades intestinales. Al pasar los parásitos al colon, de manera típica se enquistan apareciendo en las heces (fig. 46-1B). Éstos son elípticos, de pared gruesa, muy resistente y de 8 a 14 μm de longitud; las formas inmaduras contienen dos núcleos y los quistes maduros cuatro.

CUADRO 46-2 Conceptos básicos sobre protozoos parasíticos

Los protozoos parasíticos tratados en este capítulo se agrupan en flagelados, amebas, esporozoos y ciliados.
Los flagelados y las amebas se multiplican por fisión binaria; los esporozoos se reproducen por un proceso conocido como merogonia (llamado también esquizogonia) en el cual hay réplica del núcleo antes de la citocinesis.
Los esporozoos también muestran recombinación sexual que culmina en variaciones genómica y antigénica.
Los protozoos se multiplican con rapidez (en cuestión de horas) en el hospedador y originan síntomas de comienzo rápido.
Las infecciones intestinales se producen por ingestión de un quiste ambientalmente resistente (u ovoquiste); las infecciones en la sangre dependen de vectores.
Es difícil tratar las infecciones por protozoos intracelulares (*Trypanosoma cruzi*, especies de *Leishmania*, *Criptosporidium*, *Toxoplasma* y *Plasmodium*), porque los fármacos deben cruzar la membrana plasmática. No se cuenta con vacuna alguna contra las parasitosis de los humanos.
En el caso del *Toxoplasma* surgen infecciones latentes (los parásitos en los quistes tisulares reciben el nombre de bradizoítos), y por *Plasmodium vivax* y *P. ovale* (los parásitos en los hepatocitos han sido llamados hipnozoítos).
En las infecciones por protozoos diseminadas surgen fiebre y síntomas similares al del resfriado y son inespecíficas.
Algunos protozoos parásitos evaden la respuesta inmunitaria del hospedador porque son intracelulares, muestran variación antigénica o poseen ambas características.

CUADRO 46-3 Protozoos parásitos

Protozoos intestinales
Giardia lamblia (flagelados)
Entamoeba histolytica (amebas)
Cryptosporidium hominis (esporozoos)
Cyclospora cayetanensis (esporozoos)
Infecciones por protozoos transmitidos por vía sexual
Trichomonas vaginalis (flagelados)
Infecciones por protozoos en sangre y tejidos
Flagelados
Trypanosoma brucei rhodesiense y *Trypanosoma brucei gambiense*
Trypanosoma cruzi
Leishmania donovani, *Leishmania tropica*, *Leishmania mexicana*
Amebas
Entamoeba histolytica (véase protozoos intestinales)
Naegleria fowleri y *Acanthamoeba castellanii*
Esporozoos
Plasmodium vivax, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale* y *Plasmodium malariae*
Babesia microti
Toxoplasma gondii
Microsporidios

Anatomía patológica y patogenia

G. lamblia por lo común tiene una débil capacidad patógena para los seres humanos. Es posible identificar quistes en gran número en las heces de personas totalmente asintomáticas. Sin embargo, en algunos individuos el gran número de parásitos fijados a la pared intestinal puede irritar e inflamar en forma mínima la mucosa del duodeno o del yeyuno, con aparición de diarrea aguda o crónica que depende de la hipertrofia de criptas, atrofia o aplanamiento de las vellosidades y daño de células epiteliales. El sujeto expulsa heces acuosas, semisólidas, grasientas (esteatorrea), voluminosas y fétidas en varias ocasiones en el transcurso de la infección. Pueden persistir por largo tiempo síntomas como malestar general, debilidad, adelgazamiento, cólicos abdominales, distensión y flatulencia. Se recomienda reunir múltiples muestras de heces en un lapso de varios días para incrementar la posibilidad de detectar por microscopia los quistes en extensiones.

Epidemiología

G. lamblia está presente en todo el mundo. Las personas se infectan al ingerir agua o alimentos contaminados por heces que tienen quistes de giardia o por contaminación directa por dichas heces, como podría acaecer en guarderías infantiles, campamentos de refugiados o asilos o durante el sexo bucal-anal. En instalaciones dedicadas al esquí en Estados Unidos se han notificado brotes epidémicos, en los cuales la sobrecarga de los sistemas de eliminación de aguas negras o la contaminación del abasto de agua potable ha originado brotes repentinos de giardiosis. Los quistes viven en el agua hasta tres meses. Los brotes en personas en campamentos en áreas silvestres sugieren que los humanos pueden infectarse con diversas giardias de animales, presentes en roedores, ciervos, ganado vacuno, ovejas, caballos o mascotas caseras.

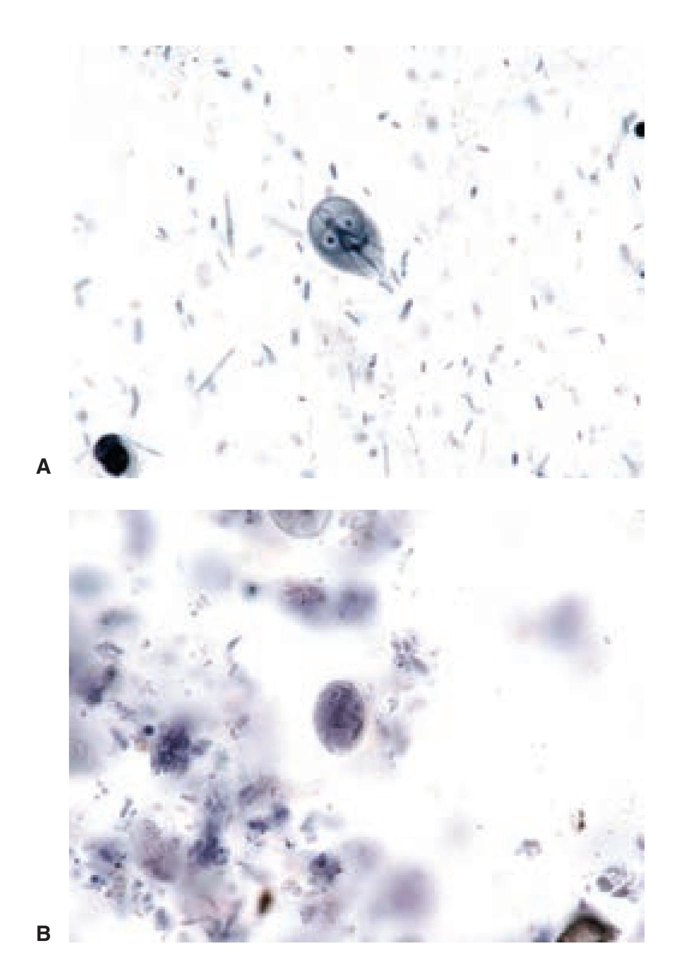


FIGURA 46-1 *Giardia lamblia*. **A:** Trofozoíto (12 a 15 μm). **B:** Quiste (11 a 14 μm). (Con autorización de J Sullivan, *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed, 2009.)

ENTAMOEBA HISTOLYTICA (AMEBAS DE INTESTINO Y TEJIDOS)

Microorganismo

Los quistes de ***Entamoeba histolytica*** aparecen sólo en el interior del colon y en heces formadas o semiformadas y su tamaño varía de 10 a 20 μm (fig. 46-2A). El quiste puede incluir una vacuola de glucógeno y cuerpos cromatoides (masas de ribonucleoproteínas), cuyos extremos de manera característica están redondeados (a diferencia de los cromatoides en "astilla" en quistes en desarrollo, de *Entamoeba coli*). En el interior del quiste se efectúa la división nuclear, por la cual el quiste adquiere cuatro núcleos y desaparecen los cuerpos cromatoides y las vacuolas de glucógeno. El diagnóstico en muchos casos depende de las características del quiste, porque los trofozoítos por lo común aparecen sólo en heces diarreicas en casos agudos y viven sólo unas horas.

El trofozoíto ameboide es la única forma que aparece en los tejidos (fig. 46-2B). Su citoplasma tiene dos zonas, una franja hialina externa y otra granulosa interna que puede contener eritrocitos (signo patognomónico), pero por lo común no contiene bacterias. La membrana nuclear está revestida de gránulos finos regulares de cromatina, con un pequeño corpúsculo central (endosoma o cariosoma).

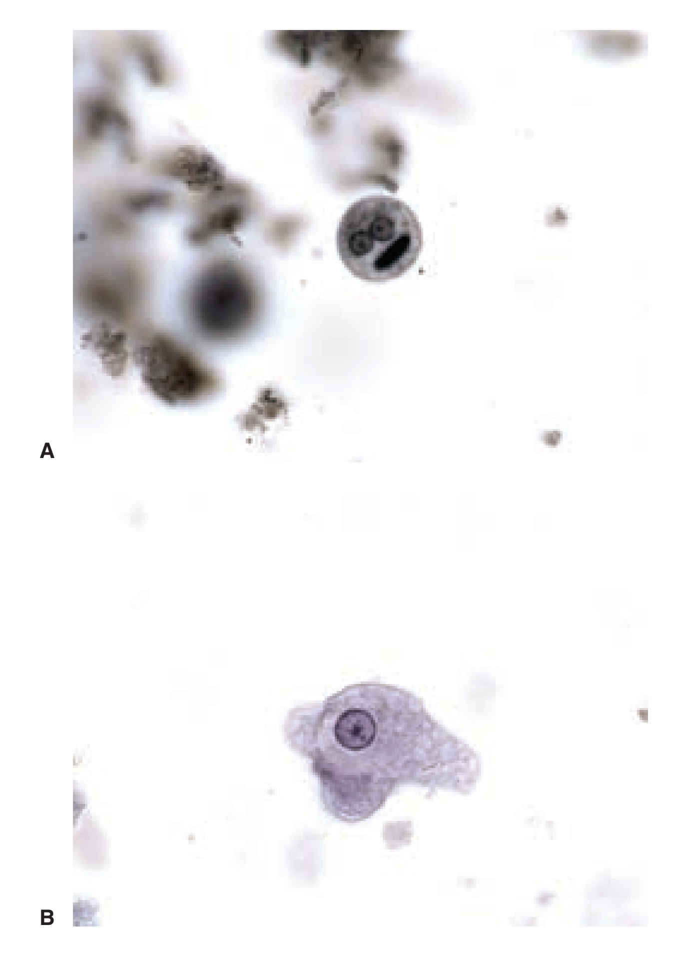


FIGURA 46-2 *Entamoeba histolytica*. **A:** Quiste (12 a 15 µm). **B:** Trofozoíto (10 a 20 µm). (Con autorización de J Sullivan, *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

Anatomía patológica y patogenia de la amebosis invasora

Se calcula que cada año, en promedio, hay unos 50 millones de casos de enfermedades invasoras y, como resultado, mueren 100 000 personas (Stanley, 2003). El cuadro patológico se manifiesta cuando los trofozoítos de *E. histolytica* invaden el epitelio intestinal y forman úlceras circunscritas que tienen cuello relativamente estrecho y sobresalen por encima de la mucosa, lo que les da un aspecto de "botón de camisa" con bordes elevados y en la concavidad se acumulan moco, células necróticas y amebas. Los trofozoítos se multiplican y acumulan por arriba de la capa muscular de la mucosa y a menudo se extienden en sentido lateral; persiste esta extensión rápida de las amebas en fase de multiplicación, lo cual socava la mucosa y origina la clásica úlcera en "botellón de agua" propia de la amebosis primaria: un punto pequeño de penetración, al que sigue un cuello angosto a través de la mucosa y de ahí a una zona necrótica expandida en la submucosa. Para esta fecha por lo común no se produce la invasión bacteriana, la reacción celular es limitada y el daño ocurre por necrosis lítica.

En la propagación ulterior pueden coalescer colonias de amebas y así socavan grandes áreas de la superficie mucosa. Los trofozoítos pueden penetrar las capas de músculo y a veces la serosa, y tal situación culmina en perforación hacia la cavidad peritoneal. El ensanchamiento del área necrótica es causa de cambios manifiestos en la úlcera y en ella pueden aparecer bordes irregulares superpuestos, invasión bacteriana secundaria y acumulación de neutrófilos. Las lesiones secundarias en intestinos pueden surgir en la forma de extensiones de la lesión primaria (por lo común en el ciego, el apéndice, o una zona cercana del colon ascendente). Los parásitos pueden viajar a la válvula ileocecal y al íleon terminal y originar una infección crónica. En este tipo de lesiones los sitios más frecuentes son el colon sigmoide y el recto. En la pared intestinal se forma a veces una masa inflamatoria o granulomatosa amebiana (ameboma), que crece en ocasiones al grado de bloquear el interior del colon y el recto.

Entre los factores que favorecen la invasión por amebas están: el número de parásitos ingeridos; la capacidad patógena de la subespecie parásita; factores del hospedador, la motilidad intestinal y la inmunocompetencia y la presencia de bacterias entéricas idóneas que estimulan la proliferación amebiana. Suele ser un problema de máxima importancia la identificación precisa y rápida de la especie de *Entamoeba*. La presencia de trofozoítos, en particular con eritrocitos en su citoplasma (fagocitos), presentes en las heces líquidas o semilíquidas, es un signo patognomónico.

Los síntomas y signos varían enormemente con arreglo al sitio y la intensidad de las lesiones. En la enfermedad grave se advierten dolor intenso del abdomen (a la palpación), disentería fulminante, deshidratación e incapacidad. En la forma menos aguda, los síntomas comienzan de modo gradual y abarcan a menudo episodios de diarrea, cólicos abdominales, náusea y vómito y un deseo urgente de defecar (tenesmo). A menudo durante semanas la persona presenta cólicos y molestias generales, anorexia y adelgazamiento con malestar generalizado. Los síntomas pueden aparecer y evolucionar en término de cuatro días de la exposición, y a veces lo hacen incluso un año después o quizá nunca (portadores asintomáticos).

La infección extraintestinal es de tipo metastásico y rara vez acaece por extensión directa desde el intestino. La forma mucho más frecuente es la hepatitis o el absceso hepático amebiano (4% o más de las infecciones clínicas), que supuestamente proviene de microémbolos, que incluyen trofozoítos transportados por la circulación porta. Se ha supuesto que los microémbolos hepáticos con trofozoítos constituyen un acompañamiento frecuente de las lesiones intestinales, pero que rara vez evolucionan las lesiones focales difusas mencionadas. Un absceso amebiano verdadero es progresivo, no supura (salvo que muestre infección secundaria) y es destructivo sin compresión ni formación de una pared. Su contenido es necrótico y bacteriológicamente estéril y las amebas activas se circunscriben a las paredes. En el absceso se produce la característica "pasta de anchoas" (en México "champurrado de chocolate") que se identifica en el drenaje quirúrgico. Más de la mitad de los individuos con un absceso amebiano del hígado no señalan el antecedente de infección intestinal y sólo 12.5% de ese grupo expulsan quistes por las heces. En raras ocasiones los abscesos amebianos aparecen en otros órganos, pulmones, cerebro, bazo o drenan a través de la pared corporal. Cualquier órgano o tejido en contacto con trofozoítos activos puede ser sitio de invasión y de aparición de un absceso. El absceso en hígado, que se manifiesta por una elevación de la mitad derecha de la cúpula diafragmática, puede identificarse por ultrasonografía, tomografía computadorizada, resonancia magnética o gammagrafía con radionúclidos. Los estudios serológicos en tales casos por lo común son fuertemente positivos.

OTRAS AMEBAS INTESTINALES

En la actualidad se considera que *E. histolytica* invasiva o patógena es una especie diferente de la variante comensal no patógena más común, *E. dispar*, que se aloja en los intestinos, y la denominación *E. histolytica* se reserva sólo para la forma patógena. *E. dispar* y *E. moshkovskii*, subespecie afín, según análisis de isoenzimas y genéticos, son especies diferentes, a pesar de que su aspecto microscópico es idéntico. Es importante diferenciar *E. histolytica* no sólo de *E. dispar* y *E. moshkovskii*, sino también de otros microorganismos amebiformes que son parásitos intestinales de seres humanos: 1) *Entamoeba coli*, muy frecuente; 2) *Dientamoeba fragilis* (flagelado), que es el único parásito intestinal distinto de *E. histolytica*, que según se sospecha, origina diarrea y dispepsia, pero no es invasor; 3) *Iodamoeba bütschlii*, y 4) *Endolimax nana*. Se necesita enorme experiencia para diferenciar entre *E. histolytica* y las demás formas, pero es una medida necesaria, porque el diagnóstico erróneo origina tratamiento innecesario o excesivo, o que no se emprenda terapia alguna.

En el comercio se pueden adquirir equipos para enzimoinmunoanálisis (EIA, *enzyme immunoassay*) para serodiagnóstico de amebosis si no se detectan los microorganismos en las heces. El equipo EIA para detectar el antígeno amebiano en las heces también es sensible y específico de *E. histolytica* y permite diferenciar entre infecciones por patógenos y microorganismos no patógenos.

Epidemiología

E. histolytica es un microorganismo de distribución mundial, en forma predominante en países en desarrollo que muestran deficiencias en las prácticas sanitarias y la higiene. Las infecciones son transmitidas por la vía fecal-oral; el sujeto suele ingerir los quistes que se encuentran en agua, verduras y alimentos contaminados; también se ha dicho que intervienen las moscas en la transmisión en áreas de contaminación por heces. Muchas infecciones son asintomáticas y el individuo asintomático que expulsa quistes (portador asintomático) constituye la fuente de contaminación de brotes en que el agua potable es contaminada por agua de albañales o hay transgresión de normas sanitarias (como en instituciones psiquiátricas, geriátricas o pediátricas, o bien cárceles).

CRIPTOSPORIDIUM (ESPOROZOOS INTESTINALES)

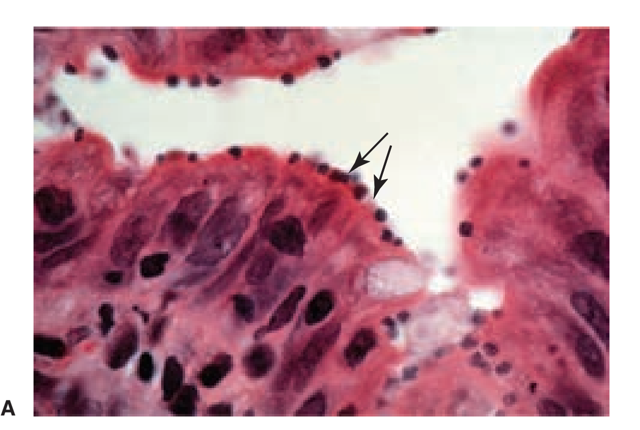
Microorganismos

Algunas especies de ***Criptosporidium***, y en particular *C. hominis*, infectan el intestino en sujetos inmunodeficientes (p. ej., las personas con SIDA) y causan diarrea intensa rebelde. Se les ha conocido desde hace mucho como parásitos de roedores, aves de corral, monos rhesus, ganado bovino y otros herbívoros, y quizá constituya una causa inadvertida de gastroenteritis y diarrea leves y autolimitantes en seres humanos. Los enfermos expulsan por las heces numerosos ovoquistes que son inmediatamente infectantes. Al ingerir una persona los ovoquistes (ooquistes) en alimentos y agua contaminados, los esporozoítos salen del quiste e invaden las células intestinales; los parásitos se multiplican por un mecanismo asexual dentro de la porción apical de las células intestinales, son liberados e infectan a otras células de esa misma zona para comenzar un nuevo ciclo. También se reproducen de forma sexual y forman microgametos masculinos y otros femeninos que se fusionan y terminan por formar ovoquistes.

Anatomía patológica y patogenia

Cryptosporidium se localiza en el borde en cepillo de las células de la mucosa epitelial de vías gastrointestinales, en particular la superficie de las vellosidades del íleon (fig. 46-3A). El signo clínico más notable de la enfermedad es la diarrea acuosa, de poca intensidad y que cede por sí sola (una a dos semanas) en sujetos normales, pero que puede ser intensa y duradera en individuos inmunodeficientes, de muy corta edad o muy ancianos. El intestino delgado es el órgano infectado con mayor frecuencia, pero se han detectado infecciones por *Cryptosporidium* en otros órganos, que incluyen otras zonas del aparato digestivo y los pulmones.

El diagnóstico depende de detectar los ovoquistes en muestras de heces recién obtenidas. Por lo común hay que utilizar técnicas de concentración de ese material y usar un colorante para acidorresistentes, modificado (fig. 46-3B). Por medio de estudios basados en anticuerpos monoclonales se pueden detectar



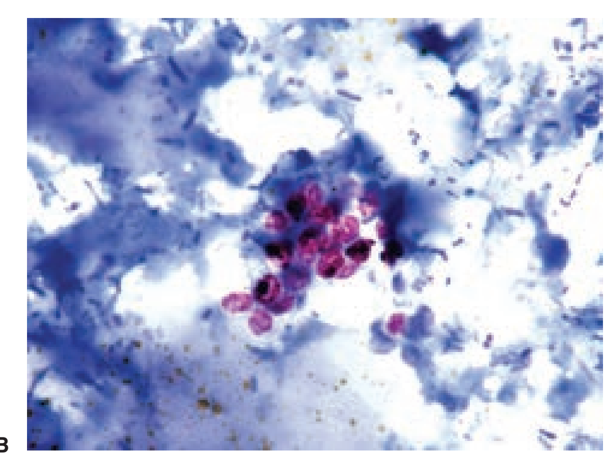


FIGURA 46-3 *Crystosporidium*. **A:** Corte histológico de intestino con los microorganismos (*flechas*) en la zona apical de las células epiteliales. (Por cortesía del Departamento de Patología, UCSF). **B:** Los ovoquistes (ooquistes) (4 a 5 μm) captan el color rosa en muestras de heces teñidas con un colorante acidorresistente. (Con autorización de J Sullivan, *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

infecciones poco intensas y es útil la microscopia fluorescente con tinción a base de auramina. Se dispone de métodos EIA para detectar el antígeno en heces.

Epidemiología

El periodo de incubación de la criptosporidosis es de uno a 12 días, y el sujeto la adquiere de algún animal infectado, de heces de personas o de alimentos o aguas contaminados por estas últimas. En el caso de personas de alto riesgo (inmunodeficientes, individuos de muy corta edad o muy ancianos), se necesita evitar el contacto con heces de animales y cumplir con gran cuidado las medidas sanitarias. Los microorganismos se diseminan de manera amplia y quizás afectan de forma asintomática a una fracción importante de la población humana. Brotes ocasionales como el que surgió en Milwaukee en los comienzos de 1993, en que hubo más de 400 000 personas afectadas, son consecuencia de tratamiento inadecuado o filtración de los abastos de agua potable en grandes centros urbanos. En el caso mencionado, al parecer los abastos de agua potable se contaminaron por estiércol de ganado de grandes granjas bovinas. Incluso 30 microorganismos pueden desencadenar una infección (la capacidad del parásito para completar su ciclo vital, incluida la fase sexual en la misma persona [autoinfección]), y ello permite que surjan a menudo infecciones fulminantes en personas inmunodeprimidas.

CICLOSPORA (ESPOROZOOS INTESTINALES)

Microorganismo

El ciclo vital de ***Cyclospora*** es semejante al de *Cryptosporidium* y al parecer incluye sólo un hospedador. Sin embargo, la diferencia entre una y otra subespecies es que los ovoquistes de *Cyclospora* no infectan inmediatamente cuando son expulsados en las heces. A diferencia de los ovoquistes de *Cryptosporidium* que son infectantes en las heces, se necesita del transcurso de días o semanas para los de *Cyclospora* sean infectantes, y ante tal situación, es posible que no se produzca la transmisión directa de una persona a otra por medio de las heces. La ciclosporosis se ha vinculado con infecciones transmitidas por agua y alimentos, con varios tipos de productos frescos como moras, mezcla de brotes de lechuga y mejorana desde el decenio de 1990 (Herwaldt, 2000; Ho et al., 2002).

Anatomía patológica y patogenia

La alteración de la arquitectura de la mucosa, acortamiento de las vellosidades intestinales, causadas por edema difuso e infiltración con células de inflamación, ocasiona diarrea, anorexia, fatiga y adelgazamiento. Los síntomas suelen durar un tiempo en personas no inmunes ni tratadas, pero al final ceden por sí solos y durante semanas o meses pasan por una fase de remisión y reaparición. El periodo de incubación en el caso de infecciones por ciclospora es de una semana, en promedio, periodo semejante al de las infecciones por *Cryptosporidium*. Se necesita solicitar estudios específicos de laboratorio para identificar *Cyclospora* (igual que ocurre con *Cryptosporidium*) al buscar en las heces ovoquistes (8 a 10 μm), que son acidorresistentes (rojizos). Las infecciones por *Cyclospora* pueden ser tratadas con trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMZ).

INFECCIONES POR PROTOZOOS DE TRANSMISION SEXUAL

TRICHOMONAS VAGINALIS (FLAGELADO DE VÍAS GENITOURINARIAS)

Microorganismo

Trichomonas vaginalis existe sólo en la forma de trofozoíto (no se conoce una etapa de quiste); posee cuatro flagelos libres que nacen de un solo pedículo y un quinto flagelo que forma una membrana ondulatoria. Es piriforme, y tiene en promedio 20 μm de largo y 10 μm de ancho.

Anatomía patológica y patogenia

T. vaginalis es un parásito de transmisión sexual y muchas infecciones son asintomáticas o de poca intensidad en mujeres y varones. En ellas la infección por lo común se circunscribe a la vulva, la vagina y el cuello uterino, pero no abarca el útero. Las superficies mucosas pueden estar sensibles, inflamadas, erosionadas y cubiertas por una capa de secreción de color crema o amarillento, espumosa. En los varones puede infectar la próstata, las vesículas seminales y la uretra. Los signos y síntomas en las mujeres, además de la secreción vaginal abundante, incluyen dolor local a la palpación, prurito y ardor en la vulva. En promedio, 10% de los varones infectados presentan una secreción uretral blanquecina y acuosa. El periodo de incubación va de cinco a 28 días.

Epidemiología

T. vaginalis es un parásito que afecta varones y mujeres. Se transmite durante el coito, pero algunas infecciones pueden provenir de toallas contaminadas, equipo para limpieza íntima de la mujer, instrumentos de exploración y otros objetos (fómites). Los neonatos pueden infectarse al pasar por el conducto uterino. El control de las infecciones por *T. vaginalis* obliga al tratamiento simultáneo de la pareja. Hay que usar en el coito protección mecánica (condones) hasta que quede erradicada la infección en la pareja.

INFECCIONES DE SANGRE Y TEJIDOS POR PROTOZOOS

HEMOFLAGELADOS

Los hemoflagelados de los seres humanos incluyen los géneros ***Trypanosoma*** y ***Leishmania*** (cuadro 46-4). Se conocen dos tipos particulares de tripanosomas de humanos: 1) el africano, que causa enfermedad del sueño y es transmitida por moscas tse-tse (*Glossina*): *Trypanosoma brucei rhodesiense* y *Trypanosoma*

CUADRO 46-4 Comparación de las especies de *Trypanosoma* y de *Leishmania*

Hemoflagelados	Enfermedad	Vector	Etapas en seres humanos
Trypanosoma brucei rhodesiense	Enfermedad africana del sueño (aguda)	Mosca tse-tse	Tripomastigotes en la sangre
Trypanosoma brucei gambiense	Enfermedad africana del sueño (crónica)	Mosca tse-tse	Tripomastigotes en la sangre
Trypanosoma cruzi	Enfermedad de Chagas	Chinche besadora	Tripomastigotes en sangre; amastigotes intracelulares
Especies de *Leishmania*	Leishmaniosis cutánea, mucocutánea o visceral	Mosca de la arena	Amastigotes en el interior de macrófagos y monocitos

brucei gambiense, y 2) americano, que causa la enfermedad de Chagas y es transmitido por chinches besadoras (*Triatoma*): *Trypanosoma cruzi*. El género *Leishmania* se divide en especies que infectan a seres humanos y causa la leishmaniosis cutánea (úlcera oriental), la mucocutánea (espundia) y la visceral (kala-azar). Las infecciones mencionadas son transmitidas por moscas de la arena (*Phlebotomus* en Europa y *Lutzomya* en América).

TRYPANOSOMA BRUCEI RHODESIENSE Y *T. B. GAMBIENSE* (HEMOFLAGELADOS)

Microorganismos

Los miembros del género *Trypanosoma* aparecen en la sangre en la forma de tripomastigotes, cuyo cuerpo alargado tiene una membrana ondulatoria lateral longitudinal y un flagelo, muy junto al borde libre de la membrana y que emerge en el extremo anterior en la forma de una extensión a manera de látigo (fig. 46-4). El cinetoplasto (DNA circular dentro de una sola mitocondria) es un corpúsculo de color oscuro muy junto al cuerpo basal, del cual surge el flagelo. Son prácticamente idénticas en su morfología ***Trypanosoma brucei rhodesiense***, ***T. b. gambiense*** y *T. b. brucei* (que origina la enfermedad del sueño llamada nagana en ganado y animales de caza), pero muestran diferencias en sus aspectos bioquímico, ecológico y epidemiológico.

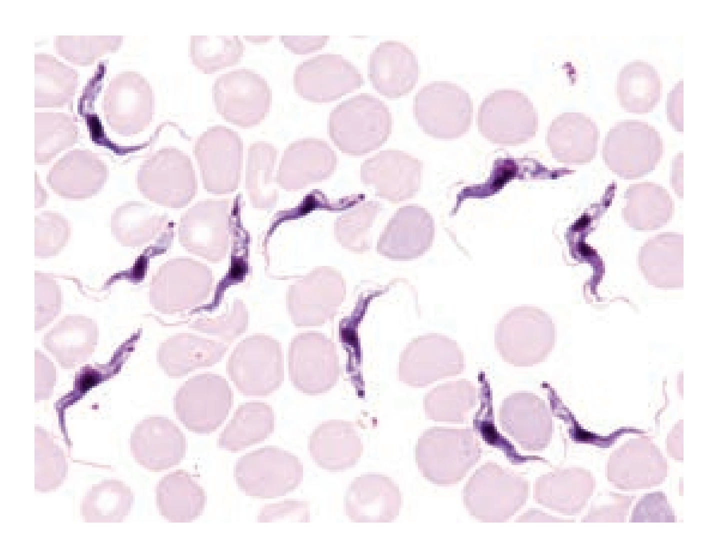


FIGURA 46-4 Tripomastigotes de *Trypanosoma brucei gambiense* (o *Trypanosoma brucei rhodesiense*, idéntico en la práctica) (14 a 35 µm) en extensión de sangre (eritrocitos = 10 µm). (Con autorización de J Sullivan, *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

Anatomía patológica y patogenia

Los tripanosomas infectantes de los géneros *T. b. gambiense* y *T. b. rhodesiense* son introducidos por la picadura de la mosca tse-tse, se multiplican en el sitio de la inoculación, y causan induración e hinchazón variables (lesión primaria) que evoluciona hasta formar un chancro tripanosómico. Las formas africanas se multiplican de modo extracelular, en la forma de tripomastigotes en la sangre y también en los tejidos linfoides. Se propagan a los ganglios linfáticos, a la corriente sanguínea y en etapas terminales, al sistema nervioso central, y ocasionan el típico síndrome de enfermedad del sueño: lasitud, imposibilidad para consumir alimentos, consunción tisular, inconsciencia y muerte.

La afectación del SNC caracteriza más bien a la tripanosomosis africana. *T. b. rhodesiense* aparece en el líquido cefalorraquídeo aproximadamente al mes de comenzado el cuadro y *T. b. gambiense* en cuestión de meses, pero ambas en corto número. La infección por *T. b. gambiense* es crónica y origina meningoencefalitis difusa progresiva y en cuestión de uno o dos años el sujeto muere por el síndrome de la enfermedad mencionada. El ataque por *T. b. rhodesiense*, que es mortal a menor plazo, origina somnolencia y coma solamente en las semanas finales de la infección terminal. Los tripanosomas pueden transmitirse a través de la placenta y se observan infecciones congénitas en áreas hiperendémicas.

Los tripanosomas africanos del complejo *T. brucei* tienen como característica peculiar el presentar variación antigénica a través de una serie de glucoproteínas de superficie genéticamente controladas que cubren el área exterior del microorganismo (glucoproteínas variantes de superficie o VSG, *variant surface glycoproteins*). Oleadas sucesivas de parásitos en la corriente sanguínea del hospedador están cubiertas con una capa diferente; el proceso depende de cambios genéticamente inducidos, de la glucoproteína de superficie. El parásito, gracias a la producción de diferentes membranas antigénicas superficiales, puede evadir la acción de los anticuerpos, que el hospedador genera en respuesta. Cada población disminuye, pero es sustituida a breve plazo por otro tipo antigénico antes de que quede eliminada la anterior. Se piensa que cada tripanosoma tiene unos 1 000 genes VSG, ejemplo de mosaico génico.

Epidemiología

La tripanosomosis africana está circunscrita a las zonas reconocidas en que proliferan las moscas tse-tse ("cinturones"). El hábitat de *T. b. gambiense* transmitida por *Glossina palpalis* de riberas y otros vectores tse-tse de bosques húmedos, se extiende desde África Occidental a África Central y ocasiona una infección relativamente crónica con ataque progresivo del sistema nervioso central. *T. b. rhodesiense*, transmitida por las especies de bosques y sabanas de *Glossina morsitans*, *G. pallidipes* y *G. fuscipes*, aparece en las sabanas orientales y del sureste de África con focos al oeste del lago Victoria. Causa un número menor de casos pero es una forma más virulenta. Antílopes de matorrales y de otro tipo pueden constituir reservorios de *T. b. rhodesiense*, en tanto que los humanos son el reservorio principal de *T. b. gambiense*. La erradicación depende de la identificación, el aislamiento y el tratamiento de sujetos con la enfermedad; del control del desplazamiento de personas que entran y salen de zonas en que habitan las moscas; del uso de insecticidas en vehículos, y de emprender medidas de erradicación de las moscas en particular, insecticidas dispersados por aire y al modificar sus hábitat. Es difícil controlar el contacto con animales que sirven de reservorio y es poco útil un repelente de insectos contra las picaduras de las moscas tse-tse.

TRYPANOSOMA CRUZI (HEMOFLAGELADOS)

Microorganismo

Trypanosoma cruzi pasa por tres etapas en su desarrollo: epimastigotes en el vector, tripomastigotes (en la corriente sanguínea) y la fase intracelular redondeada, el amastigote. Las formas hemáticas de *T. cruzi* aparecen en los comienzos de la etapa aguda y a intervalos cada vez más escasos; son los tripomastigotes con un gran cinetoplasto terminal redondeado en preparados teñidos, pero es difícil diferenciarlos morfológicamente de los tripanosomas africanos. Las formas tisulares, que surgen con mayor frecuencia en el miocardio, el hígado y el cerebro, se desarrollan a manera de amastigotes que se multiplican hasta integrar una colonia intracelular después de invadir la célula del hospedador o por fagocitosis del parásito (fig. 46-5).

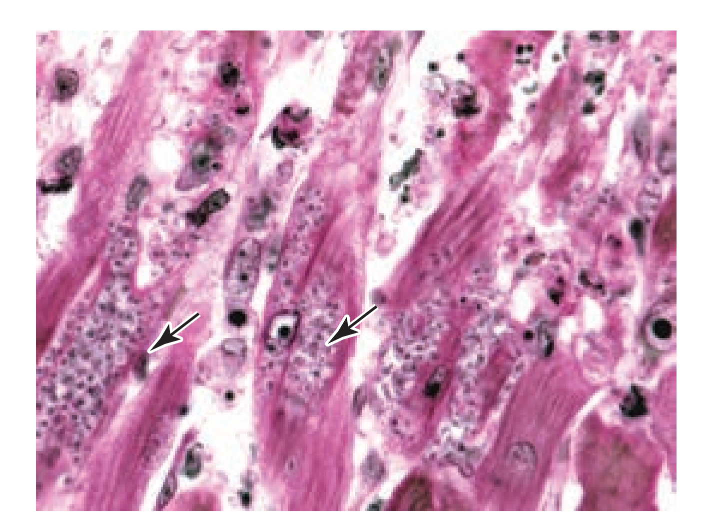


FIGURA 46-5 Colonia de amastigotes de *Trypanosoma cruzi* en miocardio. Los amastigotes tienen 1-3 μm de diámetro. (Con autorización de J Sullivan, *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

Anatomía patológica y patogenia

Las formas infectantes de *T. cruzi* no son transmitidas a los seres humanos por picaduras de triatómidos (que es el mecanismo de penetración de *T. rangeli* no patógeno); en vez de ello, se introducen cuando las heces defecadas infectadas del insecto son restregadas al interior de las conjuntivas, el punto de la picadura o la solución de continuidad de la piel (al rascarse). En el sitio de penetración del parásito puede formase un nódulo inflamatorio subcutáneo o chagoma. En los comienzos, particularmente en niños, surge de manera característica hinchazón palpebral unilateral (signo de Romaña). La lesión primaria se acompaña de fiebre, linfadenitis regional aguda y diseminación del parásito a la sangre y los tejidos.

El trastorno grave más frecuente de la enfermedad de Chagas es la miocarditis intersticial. Otros órganos afectados son el hígado, el bazo y la médula ósea, en particular con la infección crónica por *T. cruzi*. La invasión o la destrucción tóxica de plexos nerviosos en las paredes de las vías digestivas ocasiona megaesófago y megacolon, en particular en la enfermedad de Chagas de la variedad brasileña. No aparecen las dos complicaciones mencionadas en la enfermedad de Chagas de tipos colombiano, venezolano y centroamericano. *Trypanosoma rangeli* de América del Sur y del Centro afecta humanos sin causar enfermedad, y por esta razón es importante diferenciarla con gran cuidado de las especies patógenas.

Epidemiología

La tripanosomosis americana (enfermedad de Chagas) es especialmente importante en América del Centro y del Sur, aunque la infección de animales abarca zonas más amplias, por ejemplo hasta Maryland y el sur de California. En Texas y el sur de California han sido notificados unos cuantos casos autóctonos en personas. No se cuenta con tratamiento eficaz del trastorno y por ello asume trascendencia particular erradicar los vectores, a base de insecticidas de acción residual y modificación de su hábitat, como sustitución de viviendas hechas de adobe, con techos de paja en que viven los insectos, y evitar el contacto con animales que actúan como reservorios. La enfermedad de Chagas afecta principalmente personas de bajo estrato económico. Se ha calculado que 8 a 12 millones de personas tienen el parásito, y muchas de ellas terminan por mostrar daño cardiaco, y como consecuencia disminución neta de su capacidad laboral y de su esperanza de vida.

ESPECIES DE *LEISHMANIA* (HEMOFLAGELADOS)

Microorganismos

Las moscas de la arena transmiten los promastigotes infectantes durante su picadura; ellos rápidamente se transforman en

amastigotes después de ser fagocitados por macrófagos o monocitos, para multiplicarse y llenar el citoplasma de la célula. Las células infectadas se rompen y los parásitos liberados son fagocitados de nuevo; el proceso se repite y termina por causar una lesión cutánea o una infección visceral, según la especie del parásito y la reacción del hospedador. Los amastigotes son ovoides y tienen 2 a 3 μm de tamaño. El núcleo y el cinetoplasto de color oscuro, y cilíndrico fino, pueden observarse como si parecieran un punto y un guión.

El género ***Leishmania,*** distribuido ampliamente en la naturaleza, tiene especies cuya morfología es casi idéntica. Las características clínicas de la enfermedad son las que por costumbre se utilizan para diferenciarlas, pero se han identificado innumerables excepciones. Las leishmanias tienen muy diversas características clínicas y epidemiológicas que, por comodidad, se han combinado en tres grupos: 1) **leishmaniosis cutánea** (úlcera de Oriente, botón de Bagdad, úlcera húmeda o seca, úlcera de chicleros, uta y otros nombres), 2) **leishmaniosis mucocutánea** (espundia), y 3) **leishmaniosis visceral** (kala-azar o Hindi, nombre dado a la fiebre negra).

Se advierten diferencias de cepas en aspectos como virulencia, tropismo por tejidos y características biológicas y epidemiológicas y también en lo tocante a criterios serológicos y bioquímicos. Algunas especies inducen síndromes patológicos (p. ej., la leishmaniosis visceral causada por los parásitos de la leishmaniosis cutánea o viceversa). En forma semejante, agentes diferentes pueden causar la misma entidad clínica.

Anatomía patológica y patogenia

Leishmania tropical, ***L. major***, ***L. mexicana***, ***L. braziliensis*** y otras **formas cutáneas** inducen lesión en la piel en el sitio de inoculación por el flebótomo o mosca de la arena (leishmaniosis cutánea, úlcera oriental o de Delhi, y otras más). En primer lugar hay ataque de las capas de la piel con infiltración celular y proliferación intracelular de los amastigotes y propagación extracelular, hasta que la infección penetra la epidermis y la úlcera. Pueden surgir lesiones satélite (tipo de leishmaniosis cutánea por hipersensibilidad, o recidivante) en que son escasos o no se detectan los parásitos; no reaccionan fácilmente al tratamiento, y surge por inducción una potente reacción cicatrizal granulomatosa. En Venezuela se conoce una forma cutánea diseminada causada por *L. mexicana pifanoi*. En Etiopía, una forma conocida como *L. aethiopica* ocasiona de manera similar leishmaniosis cutánea propagada, sin úlceras y con ámpulas. Las dos formas típicamente son alérgicas y no reactivas a la introducción del antígeno en la piel (prueba) que contiene gran número de parásitos en las vesículas dérmicas.

L. braziliensis braziliensis causa **leishmaniosis mucocutánea** o **nasofaríngea** en la zona amazónica de América del Sur. Se le ha llamado con muchos nombres locales. Las lesiones crecen lentamente, pero son extensas (a veces tienen 5 a 10 cm). A partir de tales sitios es rápida la migración a las superficies mucosas de nasofaringe o paladar, en que durante años cesa el crecimiento de la lesión. Después de transcurridos meses o incluso más de 20 años, puede surgir una erosión incesante que destruye el tabique nasal y regiones vecinas. En algunos casos el sujeto muere por asfixia, por bloqueo de la tráquea, inanición o infecciones de vías respiratorias; todo lo anterior constituye el cuadro clásico de espundia (fig. 46-6) que muy a menudo se detecta en la cuenca amazónica. A grandes alturas en el Perú, los signos clínicos (uta) se asemejan a los de la úlcera de Oriente. La infección por *L. braziliensis guyanensis* se propaga por los linfáticos y en ellos asume la forma de una cadena lineal de lesiones no ulceradas. De manera típica la infección por *L. mexicana* se circunscribe a una sola lesión ulcerosa, indolente, que cura en término de un año, aproximadamente y deja una cicatriz circular deprimida y característica. En México y en Guatemala, el trastorno suele afectar las orejas (úlcera de chicleros), por lo común con una infección que afecta el cartílago sin úlceras y con pocos parásitos.

L. donovani que origina **leishmaniosis visceral** o kala-azar se propaga desde los sitios de inoculación para multiplicarse en células reticuloendoteliales, en particular macrófagos, en el bazo, el hígado, los ganglios linfáticos y la médula ósea (fig. 46-7); todo ello incluye también notable hiperplasia del bazo. La emaciación progresiva se acompaña de debilidad cada vez más intensa y surge fiebre irregular a veces debilitante. Sin tratamiento, las personas con síntomas de kala-azar por lo común mueren. Algunas formas, particularmente en India, terminan por mostrar una reaparición cutánea florida después de curación, y en las vesículas de la piel abundan los parásitos, uno a dos años más tarde (leishmanoide dérmico después de kala-azar).

Epidemiología

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se calcula que cada año aparecen dos millones de casos nuevos de leishmaniosis (1.5 millones de leishmaniosis cutánea y 500 000 de la forma visceral) y que a nivel mundial en la actualidad están infectados 12 millones de personas (OMS, 2009).

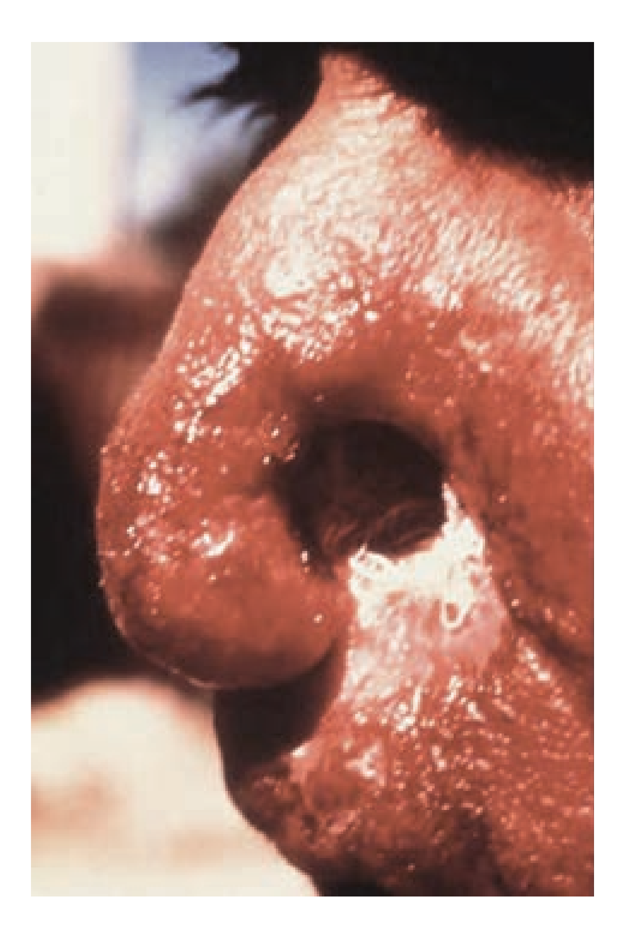


FIGURA 46-6 Paciente de espundia causada por *Leishmania braziliensis*. (Con autorización de la colección de imágenes de OMS/TDR.)

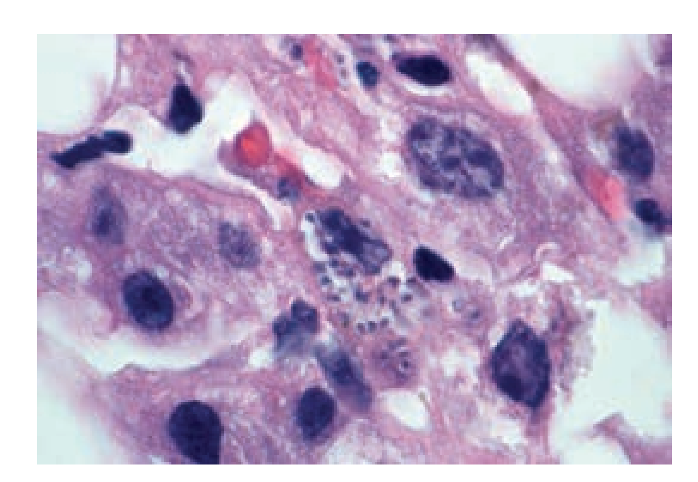


FIGURA 46-7 Amastigotes de *Leishmania donovani*, de un fragmento de biopsia de hígado. (Con autorización del Departamento de Patología, UCSF.)

La úlcera de Oriente afecta más bien regiones del Mediterráneo, África del Norte y el Oriente medio y cercano. El tipo "húmedo" causado por *L. major* es rural, y el reservorio principal lo constituyen roedores que cavan madrigueras. El tipo "seco" causado por *L. tropica* es urbano y probablemente el único reservorio son los seres humanos. En el caso de *L. braziliensis* se han identificado diversos animales salvajes hospedadores, pero al parecer no existen animales domésticos que actúen como reservorio. En todas las formas intervienen las moscas de la arena como vectores.

L. donovani aparece en forma focal en muchos países tropicales y subtropicales. Su distribución local depende de la prevalencia de moscas de la arena como vectores específicos. En el litoral mediterráneo y en la zona media de Asia y en América del Sur, los cánidos domésticos y salvajes son los reservorios y en Sudán, lo son en el caso del kala-azar endémico, los carnívoros y los roedores salvajes. En lo que toca a las formas en India y Kenia no se han identificado animales que actúen como reservorios. La erradicación se orienta a destruir sitios de procreación, y perros, y si así conviene, proteger a las personas de picaduras de moscas de la arena.

ENTAMOEBA HISTOLYTICA (AMEBA TISULAR) —Consúltese la sección Infecciones intestinales por protozoos

NAEGLERIA FOWLERI, ACANTHAMOEBA CASTELLANII Y *BALAMUTHIA MANDRILLARIS* (AMEBAS LIBRES)

Microorganismos

En Europa y América del Norte aparecen casos de meningoencefalitis amebiana primaria (PAM, *primary amebic meningoencephalitis*) y encefalitis amebiana granulomatosa (GAE, *granulomatous amebic encephalitis*) por invasión amebiana del cerebro. Se ha dicho que intervienen como causales las amebas terrestres libres *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba castellanii*, *Balamuthia mandrillaris* y posiblemente especies de *Hartmanella*. Muchos casos han aparecido en niños que nadan y bucean en aguas cálidas y contaminadas con tierra (como estanques y ríos).

Anatomía patológica y patogenia

Las amebas, y en particular ***Naegleria fowleri***, penetran por las vías nasales y la lámina cribosa del hueso etmoides para pasar en forma directa al tejido cerebral, en donde forman rápidamente nidos de amebas que causan hemorragia y lesión extensa, en forma predominante en las zonas basales del cerebro y el cerebelo (fig. 46-8).

El periodo de incubación varía de uno a 14 días, y entre los síntomas incipientes están cefalea, fiebre, letargia, rinitis, náusea, vómito y desorientación y se asemeja al cuadro de meningitis bacteriana aguda. En muchos casos el paciente entra en coma y fallece en término de una semana. El elemento clave para hacer el diagnóstico es la sospecha clínica basada en el antecedente reciente de nadar o bucear en aguas tibias y estancadas.

La penetración de ***Acanthamoeba*** en el SNC se hace a través de úlceras cutáneas o traumatismos como serían la queratitis por la punción de la superficie corneal, o úlceras por el empleo de solución salina contaminada utilizada con lentes de contacto. La encefalitis amebiana granulomatosa es causada por *Acanthamoeba* y ***Balamuthia*** y por lo común afecta personas inmunodeficientes. La infección del sistema nervioso central a partir de una lesión cutánea puede surgir semanas o meses después. Se le denomina GAE para diferenciarla de la infección cerebral rápida y explosiva por *Naegleria* (PAM). Con la anfotericina B se han obtenido buenos resultados en unos cuantos enfermos, en particular casos raros en que se puede hacer de manera rápida el diagnóstico.

ESPECIES DE *PLASMODIUM* (ESPOROZOOS DE LA SANGRE)

El paludismo constituye, entre todas las parasitosis, la que mayor número de muertes causa. Se ha calculado que cada año mueren como mínimo un millón de personas por la enfermedad, más bien niños menores de cinco años de vida (Notificación sobre Paludismo, OMS, 2005.) Más de 80% de los fallecimientos a nivel mundial surgen en países subsaharianos de África.

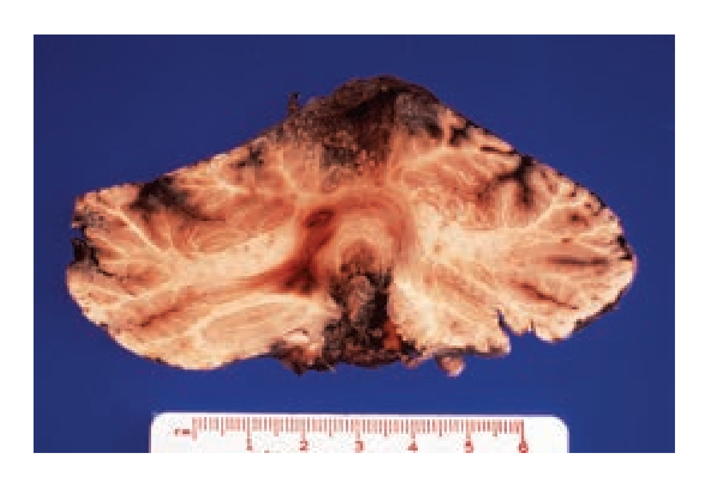


FIGURA 46-8 Zonas oscuras del cerebelo que corresponden a regiones de necrosis causadas por amebas *Naegleria fowleri*. (Con autorización del Departamento de Patología, UCSF.)

Microorganismos

Cuatro especies de *Plasmodium* causan el paludismo en seres humanos: el ***Plasmodium vivax***, ***P. falciparum***, ***P. malariae*** y ***P. ovale***. Las dos especies que afectan con mayor frecuencia son *P. vivax* y *P. falciparum* y esta última es la más virulenta. Se transmite a los humanos por la picadura y succión de sangre de mosquitos *Anopheles* hembra (fig. 46-9). En el cuadro 46-5 se resumen los aspectos morfológicos y otras características de estas especies y se ilustran en las figura 46-10 y 46-11 A a C.

La infección del ser humano es consecuencia de la picadura del mosquito *Anopheles* hembra infectado, a través de la cual se introducen en la corriente sanguínea los esporozoítos; éstos rápidamente (por lo común en término de 1 h) penetran en los hepatocitos en que se produce la primera etapa del desarrollo en las personas (fase exoeritrocítica del ciclo vital). Más adelante se dispersan por rotura celular los hijos asexuales innumerables que son los merozoítos, salen de los hepatocitos, penetran en la corriente sanguínea e invaden eritrocitos. Los merozoítos no retornan de los eritrocitos a los hepatocitos.

Los parásitos en los eritrocitos se multiplican por un mecanismo que es característico de cada especie, y rompen de manera sincrónica las células de sus hospedadores; ello constituye el ciclo eritrocítico en que aparecen a intervalos de 48 h grupos sucesivos de merozoítos (*P. vivax*, *P. falciparum* y *P. ovale*) y cada 72 h (*P. malariae*). Durante los ciclos eritrocíticos, algunos merozoítos penetran en los glóbulos rojos y se diferencian en gametocitos masculinos o femeninos. Por esta razón, el ciclo sexual comienza en el vertebrado hospedador, pero para que se continúe en la fase esporogónica es necesario que la hembra hematófaga de *Anopheles* succione e ingiera los gametocitos.

P. vivax y *P. ovale* pueden persistir en formas latentes o hipnozoítos, después de que los parásitos desaparecieron de la sangre periférica. Cuando los merozoítos provenientes de los hipnozoítos en el hígado se liberan y no experimentan fagocitosis en la corriente sanguínea, reaparece la infección eritrocítica (recaída) y con ello surge de nuevo el cuadro clínico por la infección de los glóbulos rojos. Sin tratamiento, las infecciones por *P. vivax* y *P. ovale* pueden persistir en la forma de recidivas periódicas, incluso durante cinco años. Se sabe de infecciones por *P. malariae* que persistieron por 40 años y, según se piensa, constituye una infección eritrocítica críptica y no exoeritrocítica, y por esta razón se le ha calificado de recrudecimiento, para diferenciarla de la recaída.

Anatomía patológica y patogenia

El periodo de incubación del paludismo dura de nueve a 30 días, según la especie infectante. En lo que toca a *P. vivax* y *P. falciparum*, es de 10 a 15 días, pero puede ser de semanas o meses. El periodo de incubación de *P. malariae* es de unos 28 días, en promedio. El clínico debe sospechar la existencia de paludismo por *P. falciparum*, que puede ser mortal, si surge en cualquier momento fiebre con otros síntomas o sin ellos en cualquier fecha que abarque una semana después de la primera exposición posible a la enfermedad y dos meses (o incluso más) después de la última exposición posible.

Las parasitemias por *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale* son relativamente de poca intensidad, más bien porque los parásitos muestran predilección por eritrocitos jóvenes o viejos, pero no por ambos tipos de células; *P. falciparum* invade eritrocitos de cualquier edad, incluidos los eritroblastos en la médula ósea y por ello es muy intensa la parasitemia. *P. falciparum* también hace que los eritrocitos parasitados produzcan innumerables protuberancias que se adhieren al endotelio del interior de los

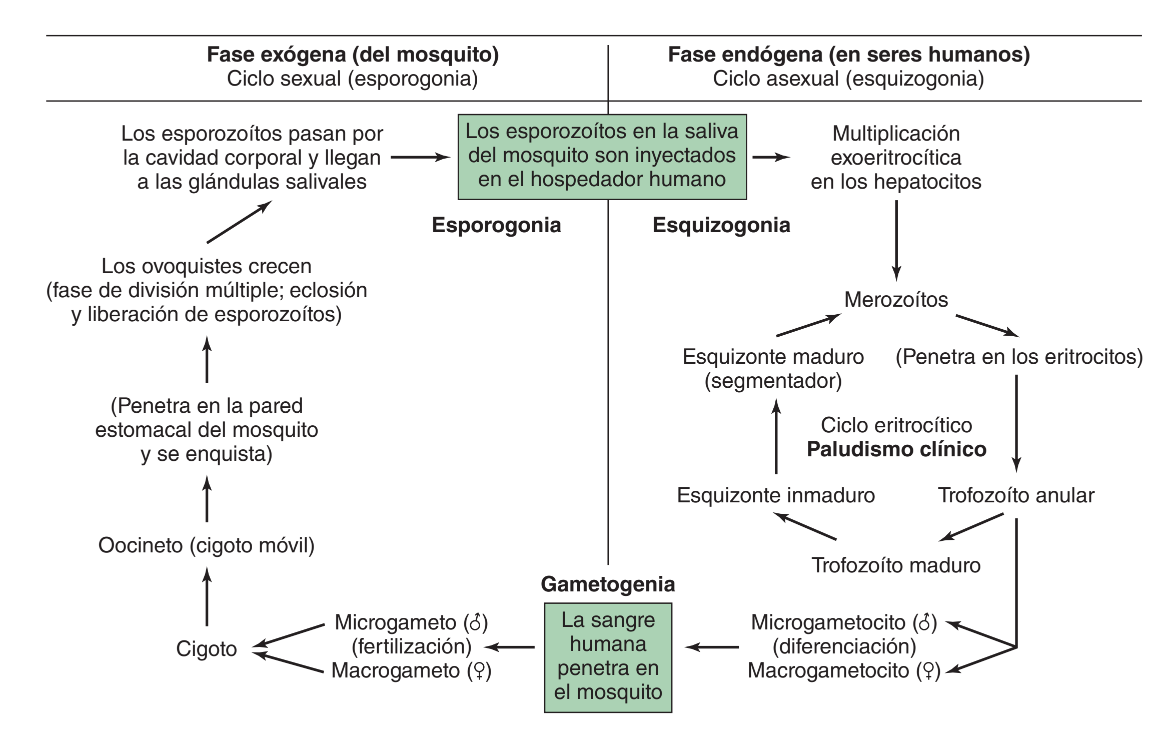


FIGURA 46-9 Ciclo vital del parásito del paludismo. Los ciclos continuos o el retraso de la multiplicación en el hígado pueden ocasionar recidivas periódicas en el curso de años (1 a 2 años en el caso de *Plasmodium ovale*; 3 a 5 en el de *Plasmodium vivax*). No se producen recidivas en el caso de *Plasmodium falciparum*, aunque puede haber un periodo largo antes de que se manifieste la enfermedad y como consecuencia los síntomas iniciales surgen incluso seis meses o más después de la exposición.

CUADRO 46-5 Algunas características de los parásitos del paludismo de seres humanos (preparados teñidos con el método de Romanowski)

	***Plasmodium vivax* (terciana benigna)**	***P. falciparum* (terciana maligna)**	***P. malariae* (cuartana)**	***P. ovale* (paludismo por *P. ovale*)**
Eritrocitos parasitados	Células agrandadas y pálidas con moteado fino (puntos de Schüffner). El parásito invade predominantemente reticulocitos que son eritrocitos jóvenes	No hay agrandamiento. Moteado grueso (hendiduras de Maurer). Invade todos los eritrocitos, independientemente de su edad	No hay agrandamiento ni moteado (excepto con tinciones especiales). Invade predominantemente eritrocitos viejos	Células agrandadas y pálidas con puntos de Schüffner muy visibles. Las células suelen ser ovales con fimbrias o dentadas
Nivel de parasitemia máxima usual	Incluso 30 000 parásitos/µl de sangre	Puede exceder de 200 000 parásitos/µl; comúnmente es de 50 000 µl	Menos de 10 000 parásitos/µl	Menos de 10 000 parásitos/µl
Trofozoítos en fase anular	Anillos grandes (1/3-1/2 del diámetro del eritrocito). Por lo común hay un solo gránulo de cromatina; el anillo es delicado	Anillos pequeños (1/5 del diámetro del eritrocito). A menudo hay dos gránulos; es común que las infecciones sean múltiples; los anillos son delicados y pueden adherirse a los eritrocitos	Anillos grandes (1/3 del diámetro del eritrocito). Por lo común hay un solo gránulo de cromatina; el anillo es grueso	Anillos grandes (1/3 del diámetro del eritrocito). Por lo común un solo gránulo de cromatina; el anillo es grueso
Pigmento en trofozoítos en fase de desarrollo	Fino; pardo claro; disperso	Grueso; negro; unos cuantos cúmulos	Grueso; pardo oscuro; grupos diseminados; abundante	Grueso; pardo amarillento oscuro; dispersos
Trofozoítos viejos	Muy pleomórficos	Compactos y redondeados[a]	Ocasionalmente se observan formas en banda	Compactos y redondeados
Esquizontes maduros (segmentadores)	Más de 12 merozoítos (14 a 24)	Por lo común más de 12 merozoítos (8 a 32). Muy raros en la sangre periférica[a]	Menos de 12 merozoítos grandes (6 a 12); a menudo se observa disposición en roseta	Menos de 12 merozoítos grandes (6 a 12); a menudo en disposición en roseta
Gametocitos	Redondos u ovales	Semilunares	Redondos u ovales	Redondos u ovales
Distribución en la sangre periférica	Todas las formas	Sólo anillos y formas semilunares (gametocitos)[a]	Todas las formas	Todas las formas

[a]Por lo común, en la sangre periférica infectada por *P. falciparum* se identifican solamente la fase anular o los gametocitos; después de la fase anular los eritrocitos quedan muy adherentes y tienden a quedar retenidos en los lechos capilares profundos, salvo en las infecciones sobreagudas por lo común letales.

vasos sanguíneos, y como consecuencia surgen obstrucción, trombosis e isquemia locales. Por las razones mencionadas, las infecciones por esa especie son mucho más graves que las originadas por los demás, con una cifra mucho mayor de complicaciones graves y a menudo letales (paludismo cerebral, hiperpirexia palúdica, trastornos gastrointestinales, paludismo álgido, fiebre hemoglobinúrica). Es de máxima importancia incluir el paludismo en el diagnóstico diferencial en individuos cuyo cuadro es sugerente y tuvieron el antecedente de haber viajado al área endémica, porque los retrasos en el tratamiento pueden ocasionar enfermedad grave o muerte por el paludismo de tipo falciparum.

Los paroxismos periódicos de paludismo guardan íntima relación con los fenómenos que tienen lugar en la corriente sanguínea. El escalofrío inicial que dura 15 min a 1 h, comienza conforme la generación de parásitos que se dividen de manera sincrónica rompe los eritrocitos hospedadores y salen a la sangre. En ese momento suelen aparecer náusea, vómito y cefalea. La fase febril que sigue y dura varias horas, se caracteriza por fiebre en agujas (intermitente) que a menudo alcanza 40°C. En esta etapa los parásitos invaden eritrocitos nuevos. La tercera etapa o de hiperhidrosis concluye el episodio. La fiebre cede y la persona queda dormida y más tarde despierta con una sensación de bienestar relativo. En las etapas iniciales de la infección, los ciclos suelen ser asincrónicos y el perfil de la fiebre es irregular; más tarde los paroxismos pueden reaparecer a intervalos regulares de 48 a 72 horas, si bien los causados por *P. falciparum* pueden durar 8 h o más y rebasar los 41°C. Al evolucionar la enfermedad, pueden surgir esplenomegalia y en menor magnitud, hepatomegalia. Surge anemia normocítica particularmente en el caso de las infecciones por *P. falciparum*.

Es posible detectar anemia normocítica de intensidad variable. Durante los paroxismos se observa generalmente leucocitosis transitoria y más tarde surge leucopenia con un incremento relativo del número de grandes mononucleares. En las pruebas de función hepática se obtienen resultados anormales durante los ataques, que se normalizan con el tratamiento o con la recuperación espontánea. La presencia de proteínas y cilindros en la orina de niños con *P. malariae* sugiere nefrosis cuartana. En infecciones graves por *P. falciparum* el daño renal puede originar oliguria y la aparición de cilindros, proteínas y eritrocitos en la orina.

Etapas	Parásitos			
	Plasmodium vivax	*Plasmodium ovale*	*Plasmodium malariae*	*Plasmodium falciparum*
Etapa anular				
Trofozoíto en desarrollo				
Esquizonte en desarrollo				
Esquizonte				
Microgametocito				
Macrogametocito				

FIGURA 46-10 Características morfológicas de fases del desarrollo de parásitos del paludismo en los eritrocitos. Se identifican los puntos de Schüffner citoplásmicos en las células agrandadas del hospedador, en las infecciones por *Plasmodium vivax* y *Plasmodium ovale*; el trofozoíto en banda que se observa a menudo en infección por *Plasmodium malariae*, y los anillos pequeños por infección múltiple y los gametocitos en forma de banana en las infecciones por *Plasmodium falciparum*. De manera típica, los anillos y los gametocitos se identifican en extensiones de sangre periférica obtenida de sujetos con infecciones por *Plasmodium falciparum*. (Con autorización de Goldsmith R, Heyneman D: *Tropical Medicine and Parasitology*. McGraw-Hill, 1989.)

Epidemiología y erradicación

El paludismo en la actualidad por lo común se limita a zonas tropicales y subtropicales, a pesar de que los brotes en Turquía son prueba de la capacidad de esta enfermedad para reaparecer en zonas en que no existía. El padecimiento en zonas templadas es más bien poco común, aunque a veces se producen intensos brotes epidémicos cuando quedan expuestas grandes poblaciones no inmunes en esas áreas; por lo común es inestable y es relativamente fácil su erradicación. El paludismo de trópicos por lo común es más estable, difícil de erradicar y de controlar. En los trópicos el paludismo por lo común desaparece en zonas a más de 2000 m de altura. Las especies más comunes, que son *P. vivax* y *P. falciparum*, aparecen en todas las "franjas" o cinturones palúdicos. *P. malariae* también se distribuye de manera extensa, pero es mucho menos frecuente su presencia. *P. ovale* es rara excepto en África Occidental, zona en la cual al parecer remplaza a *P. vivax*. Todas las formas palúdicas se transmiten por vía transplacentaria, por transfusión de sangre o por agujas que comparten sujetos que abusan de drogas por vía endovenosa, cuando uno de ellos está infectado. Los casos de ese tipo no incluyen una infección del hígado y por ello no hay recaídas. La infección natural (diferente de la causada por transmisión transplacentaria) ocurre sólo con la picadura del mosquito hembra infectado *Anopheles*.

El control del paludismo depende de eliminar los criaderos de mosquitos, la protección personal contra tales insectos (como serían las telas de alambre, mosquiteros tratados con piretrina [fig. 46-11D], ropas protectoras con mangas largas y pantalones largos, y repelentes); fármacos supresores en el caso de personas expuestas y tratamiento adecuado de los enfermos y de los portadores. Para la erradicación se necesita evitar el

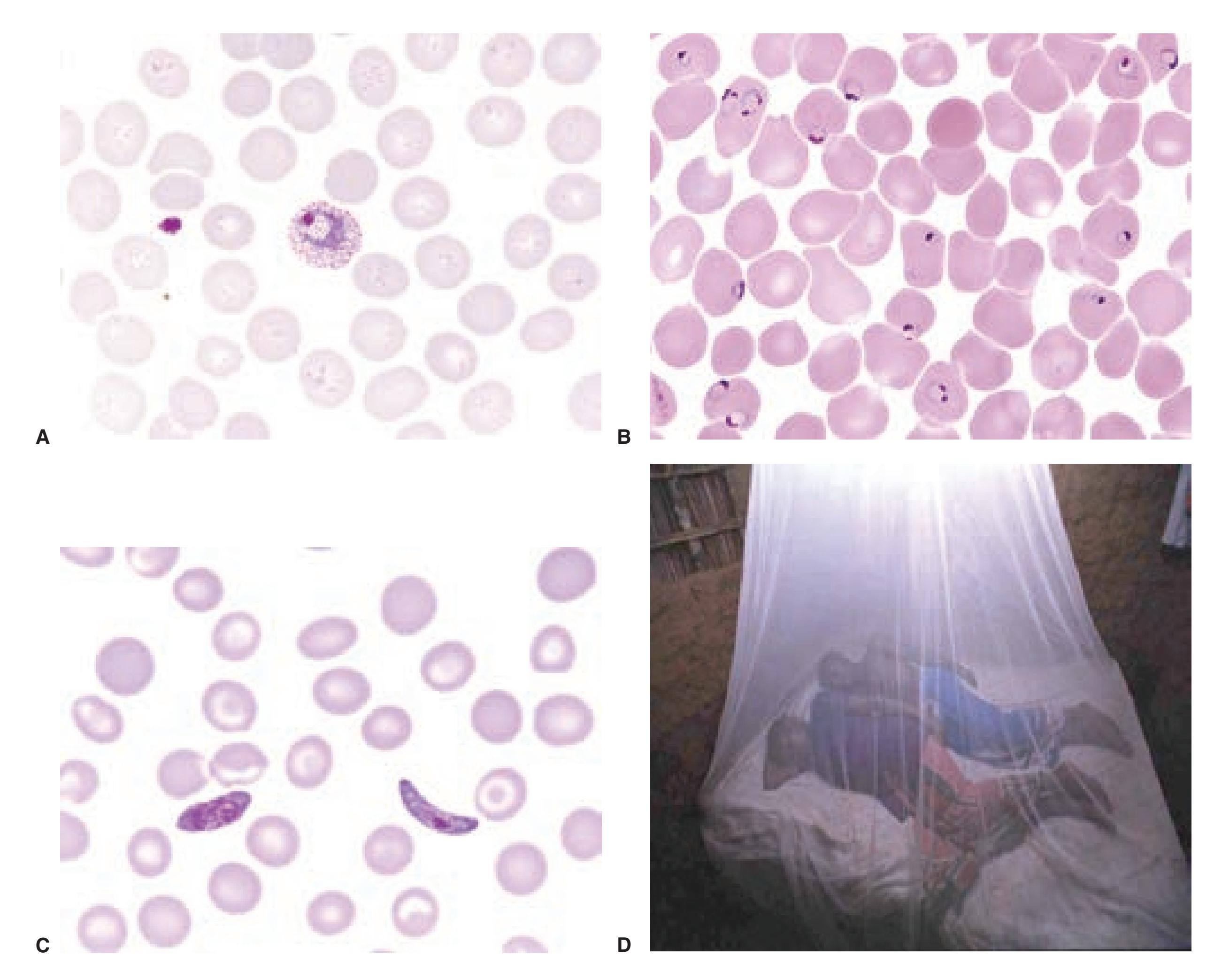


FIGURA 46-11 Características diferenciales entre los dos parásitos más comunes del paludismo. **A:** Trofozoíto de *Plasmodium vivax* dentro de un eritrocito, con puntos de Schüffner. **B:** Anillos dobles, y **C:** Gametocitos en forma de banana que de manera típica se observan en las infecciones por *Plasmodium falciparum*. **D:** Los mosquiteros impregnados con insecticida constituyen una forma importante de protección contra los mosquitos que transmiten el paludismo. (**A-C**, con autorización de J Sullivan, *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed, 2009. **D,** Con autorización de la colección de imágenes de OMS/TRD/Crump.)

contacto y la picadura de mosquitos *Anopheles*, a seres humanos, todo el tiempo necesario, para evitar la transmisión y también la eliminación de todos los casos activos, por tratamiento o por curación espontánea. No han rendido frutos satisfactorios los intentos de tratamientos masivos en áreas tropicales fuertemente endémicas. Los proyectos caros de erradicación emprendidos entre 1955 y 1970 fueron sustituidos por programas de control orientados específicamente contra los factores ecológicos del mosquito vector y la epidemiología del paludismo en cada zona. Los programas en cuestión deben continuarse como una de las responsabilidades permanentes en salud pública. Está en marcha un intento importante, auspiciado por la OMS, para "eliminar el paludismo".

No se cuenta con una vacuna contra el paludismo. Se ha probado un antígeno superficial del esporozoíto como elemento de la vacuna antiesporozoíto, pero no se obtuvieron buenos resultados en las pruebas iniciales en los humanos. En Colombia se sometió a prueba una vacuna a base de un tripéptido sintético SPf66, y su eficacia fue parcial (<50%). La vacuna totalmente profiláctica tendría que mostrar actividad contra esporozoítos y merozoítos de la especie que se intente combatir, con un efecto antigametocida para disminuir la frecuencia de transmisión. Ha habido un incremento de señalamientos de paludismo de tipo falciparum resistente a múltiples fármacos y su complejo, y se han sugerido regímenes variables para profilaxis y tratamiento en áreas diferentes; por esta razón, es conveniente enviar a los pacientes en Estados Unidos a los *Centers for Disease Control and Prevention* para que se les señalen las recomendaciones actuales (http://wwwnc.cdc.gov/travel/; CDC Malaria Hot Line en el teléfono 770-488-7788; CDC Voice Information System 1-888-CDC-FACT).

BABESIA MICROTI (ESPOROZOOS DE LA SANGRE)

Especies de *Babesia* infectan eritrocitos y constituyen parásitos que atacan ampliamente animales, que causan ictericia infecciosa en perros y fiebre en ganado vacuno de la variedad Texas (fiebre acompañada de discromías urinarias). La babesiosis, infección transmitida por garrapatas es causada en Estados Unidas por ***Babesia microti***. Se le ha considerado como una infección de aparición reciente ("emergente") en seres humanos y en Estados Unidos se han notificado más de 300 casos en Massachusetts, el foco

primario en la isla de Nantucket. La mayor parte de las infecciones en personas inmunológicamente intactas son asintomáticas, pero en individuos afectados la enfermedad aparece siete a 10 días después de la picadura de la garrapata y se caracteriza por malestar general, anorexia, náusea, fatiga, fiebre, sudoración excesiva, artralgias y depresión. La babesiosis del humano es más intensa en los ancianos que en los jóvenes, en sujetos sin bazo y en pacientes de SIDA; en las personas mencionadas el cuadro puede asemejarse al del paludismo de la variedad *P. falciparum*, con fiebre alta, anemia hemolítica, hemoglobinuria, ictericia e insuficiencia renal; las infecciones a veces son mortales. En las personas puede haber confusión de *Babesia* con *P. falciparum*, por la forma anular dentro de los eritrocitos, aunque un signo diagnóstico es la aparición de la "cruz de Malta" en los glóbulos rojos sin pigmento o la presencia de gametocitos.

TOXOPLASMA GONDII (ESPOROZOOS TISULARES)

Microorganismo

Toxoplasma gondii pertenece al grupo de esporozoos, con distribución a nivel mundial, que infecta animales y aves de diversas especies. Los hospedadores finales son estrictamente los gatos y la familia Felidae; solamente en ellos acaece la etapa sexual productora de ovoquistes de *Toxoplasma*.

Los microorganismos (esporozoítos provenientes de ovoquistes o bradizoítos de los quistes tisulares) invaden las células de la mucosa del intestino delgado del gato, sitio en que forman esquizontes o gametocitos. Después de la fusión sexual de los gametos aparecen ovoquistes, que pasan al interior del intestino del gato desde las células hospedadoras y de ahí a las heces. En unas 48 h, los ovoquistes resistentes a factores ambientales terminan por ser infectantes. Cuando ellos son ingeridos por el gato, los parásitos repiten su ciclo asexual y el sexual. Si los ovoquistes son ingeridos por hospedadores intermedios como algunas aves, roedores o mamíferos, incluidos los seres humanos, los parásitos generan una infección, pero se reproducen sólo en forma asexual; en ese caso, el ovoquiste se abre en el duodeno del hombre o del animal y libera los esporozoítos que pasan a través de la pared intestinal, circulan en el organismo e invaden algunas células, en particular macrófagos, en donde forman trofozoítos, se multiplican, eclosionan y propagan la infección a ganglios linfáticos y otros órganos; estas células semilunares en multiplicación rápida (**taquizoítos**) inician la fase aguda de la enfermedad. Más adelante penetran en células nerviosas, particularmente del cerebro y los ojos, en donde se multiplican con ritmo lento (en la forma de bradizoítos) para formar quistes tisulares latentes y así comienzan la fase crónica de la enfermedad. Los quistes tisulares (llamados antiguamente seudoquistes) son infectantes cuando los ingieren los gatos (en ellos tiene lugar la fase sexual en intestinos y la producción de ovoquistes); cuando son ingeridos por otros animales se producen más quistes tisulares (fase asexual).

Anatomía patológica y patogenia

El microorganismo en cuestión produce en las personas toxoplasmosis congénita o posnatal. La primera forma, que se observa sólo cuando la mujer no inmune es infectada durante su embarazo, por lo común es muy intensa; suele ser menos intensa la toxoplasmosis posnatal. Muchas de las infecciones en seres humanos son asintomáticas. Sin embargo, en pacientes de SIDA pueden surgir infecciones fulminantes y mortales, tal vez por la transformación de una infección crónica en otra aguda. En personas inmunodeprimidas se observan a veces grados variables de la enfermedad que originan retinitis o coriorretinitis, encefalitis, neumonitis, y otros trastornos.

El taquizoíto destruye directamente las células y muestra predilección por células del parénquima y las del sistema reticuloendotelial. Los seres humanos son relativamente resistentes, pero a veces surge una infección leve en ganglios linfáticos, que se asemeja a la mononucleosis infecciosa. Al romperse un quiste tisular se liberan innumerables bradizoítos, y la reacción de hipersensibilidad local puede originar inflamación, bloqueo de vasos sanguíneos, y muerte celular cerca del quiste roto.

La infección congénita origina muerte fetal, coriorretinitis, calcificaciones intracerebrales, perturbaciones psicomotoras, hidrocefalia o microcefalia. En dichos casos, la mujer se infectó por primera vez durante el embarazo. La toxoplasmosis prenatal es una causa importante de ceguera y de otros defectos congénitos. La infección en el primer trimestre de la gestación suele culminar en óbito fetal con graves anomalías del sistema nervioso central. Las que surgen en el segundo y tercer trimestres inducen daño neurológico menos intenso, aunque son más comunes. Las manifestaciones clínicas de las infecciones pueden retrasarse y surgir mucho después del nacimiento y aparecer incluso después de la niñez. Los efectos duraderos de la toxoplasmosis prenatal tardía pueden causar problemas neurológicos o dificultades del aprendizaje.

Epidemiología

Evitar el contacto de las personas con las heces de gato es un factor de importancia neta en el control de la enfermedad, particularmente en mujeres embarazadas con resultados negativos de estudios serológicos. Los ovoquistes por lo común necesitan 48 h para ser infectantes, de manera que el cambio diario de la arena en que defecan los gatos (y su eliminación segura) puede evitar la transmisión. Sin embargo, la embarazada debe evitar todo contacto con los gatos, en particular los cachorros. Una causa de gran importancia en la exposición de humanos es el consumo de carne cruda o mal cocida en la que están a menudo quistes tisulares infectantes. Las personas (y otros mamíferos) se infectan por la invasión de ovoquistes en las heces de gatos o por quistes tisulares en carne cruda o mal cocida. La carne se esteriliza si se le congela a −20°C durante 48 h o se calienta a 50°C durante 4 a 6 minutos. Elementos esenciales durante el embarazo son la limpieza escrupulosa de la cocina, lavado de manos después de tocar carne cruda y evitar el contacto con los gatos y la arena en que defecan. Se recomienda la práctica periódica de métodos serológicos de cribado de anticuerpos de tipos IgG e IgM contra *Toxoplasma*. Para información adicional consúltense los trabajos de Cook y Zumk (2003) y de Guerrant et al. (2006).

MICROSPORIDIOS

Los **microsporidios** constituyen un conjunto peculiar de parásitos intracelulares que se caracterizan por una espora unicelular que contiene un filamento polar tubular a manera de un resorte,

a través del cual es eliminado el esporoplasma a tensión y pasa a la célula hospedadora. La identificación de la especie y el género se basa en la morfología identificada en la microscopia electrónica de la espora, de los núcleos y del filamento polar en resorte. Por medio del azul tricrómico modificado pueden ser detectados microsporidios en orina, heces y muestras obtenidas del área nasofaríngea. Todas las clases de vertebrados (en particular peces) y muchos grupos de invertebrados (en especial los insectos) muestran infección de prácticamente todos sus tejidos.

La transmisión se efectúa más bien por ingestión de las esporas en alimentos o agua. Es frecuente la transmisión transplacentaria. Han sido pocos los casos en personas inmunocompetentes, pero en sujetos con SIDA se han observado infecciones intestinales, oftálmicas y sistémicas. Con frecuencia cada vez mayor se reconoce a los microsporidios como un grupo de parásitos oportunistas, probablemente muy diseminados, abundantes, y no patógenos en personas inmunológicamente intactas, pero una amenaza incesante para el sujeto inmunodeprimido. A menudo aparecen junto con *Cryptosporidium* en enfermos de síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

Se han identificado en personas inmunodeprimidas las siguientes infecciones por microsporidios (predominantemente en enfermos de SIDA) (Guerrant et al., 2006). Infecciones oculares: *Encephalitozoon hellum*, *Vittaforma corneae* (*Nosema corneum*) y *Nosema ocularum*. Infecciones intestinales: *Enterocytozoon bieneusi* y *Encephalitozoon intestinalis*. En el caso de infecciones por *Encephalitozoon hellum*, *Encephalitozoon cuniculi*, especies de *Pleistophora*, *Bracheola vesicularam*, *B*. (*Nosema*) *algerae*, *B* (*Nosema*) *connori*, o *Trachipleistophora hominis*, no se cuenta con tratamiento; afectan principalmente a personas con síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

INFECCIONES INTESTINALES POR HELMINTOS

En los cuadros 46-6 y 46-7 de este capítulo se incluyen conceptos básicos sobre helmintos parásitos y los helmintos en general. En el cuadro 46-8 se hace una sinopsis de la helmintosis.

Se ha calculado que a nivel mundial 1 500 millones de personas están infectadas por *Ascaris lumbricoides*, el verme redondo gigante de los seres humanos; mil trescientos millones están infectadas por uncinarias o anquilostomas (*Ancylostoma duodenale* o *Necator americanus*), y 800 millones están infectadas por tricuros (*Trichuris trichiura*) (véase Parasitosis, en CDC web site, www.cdc.gov/ncidod/dpd).

Muchas de las helmintosis intestinales son benignas, excepto cuando el número de vermes es grande, y el de las formas adultas en el intestino llega a sumar cientos. En las infecciones del intestino por vermes, dicho órgano suele tener la forma adulta del parásito, excepto *Strongyloides*, *Trichinella* y *Taenia solium*, que además de estar en la forma adulta en ese órgano, también incluye larvas que migran a través de diversos tejidos.

Casi todas las infecciones por nematodos se contagian por la vía fecal-oral, y contribuyen a la transmisión comportamientos irregulares, así como deficiencias de sanidad e higiene. En el caso de las tres infecciones intestinales más frecuentes (por oxiuros, anquilostomas y áscaris) los huevos necesitan ser incubados en la tierra varios días o semanas en climas cálidos tropicales.

La costumbre de consumir alimentos crudos o poco cocidos contribuye a muchas de las infecciones por trematodos y cestodos; ellas se adquieren por la ingestión de hospedadores intermedios mal cocidos, que incluyen hortalizas, peces, carnes de res y de cerdo. La cocción y la congelación perfectas destruyen los parásitos y con ello evitan infecciones transmitidas por alimentos. Entre los factores que contribuyen a las infecciones por *Dipylidium canimun* y *Echinococcus granulosus* están el comportamiento de las personas y la convivencia muy cercana con mascotas.

ENTEROBIUS VERMICULARIS (OXIURO-NEMATODO INTESTINAL)

Organismo

Los **oxiuros** hembra (de unos 10 mm de longitud) tienen una cauda posterior delgada, en punta. Los machos tienen unos 3 mm de longitud y un extremo posterior curvo (fig. 46-12A y B). Los oxiuros están distribuidos a nivel mundial, pero son más abundantes en climas templados, en comparación con los tropicales. Constituyen la helmintosis más común en Estados Unidos e infestan predominantemente niños.

Anatomía patológica y patogenia

El síntoma principal que surge en las oxiurosis es el prurito perianal, en particular en la noche, por la reacción de hipersensibilidad contra los huevos que el parásito hembra deposita en esa región y que migra desde el colon por la noche. El rascado de la región anal facilita la transmisión porque los huevos son muy infestantes en término de horas de haber sido expulsados (transmisión manual/bucal). La persona y en particular el niño, está irritable y fatigada por no dormir, pero la infestación es relativamente benigna.

Los huevos se obtienen por medio de la técnica de cinta adhesiva transparente en la mañana, antes de una defecación. Se aplica la cinta directamente en el área perianal y después se lleva a un portaobjetos para estudio microscópico. El aspecto de ellos es el de balones de fútbol americano, con una cubierta externa fina y tienen 50 a 60 μm de longitud (fig. 46-12C). En el interior del huevo a menudo se identifica la larva infectante. Los pequeños vermes adultos a veces se detectan en el examen coproparasitoscópico de excrementos (huevos y parásitos). Los huevos son livianos y muy infectantes y por ello es importante lavar con agua caliente la lencería de cama, las toallas y la ropa interior, para evitar la reinfección.

TRICHURIS TRICHIURA (TRICOCÉFALO-NEMATODO INTESTINAL)

Organismo

Los **tricocéfalos** adultos hembra tienen 30 a 50 mm de longitud; los machos adultos tienen menor tamaño (fig. 46-13A y B). El extremo anterior es delgado y el posterior más grueso y ello le confiere un aspecto de "látigo". Los tricocéfalos adultos viven en el colon y en él se aparean los machos y las hembras. Ellas liberan huevos (fig. 46-13C) que son expulsados en las heces y son infectantes después de unas tres semanas de incubación en tierra húmeda y sombreada. Los seres humanos se contagian al consumir alimentos contaminados con huevos infectantes. Una

CUADRO 46-6 Conceptos básicos sobre helmintos parásitos

Los helmintos parásitos cuyos datos se exponen en este capítulo se agrupan en nematodos, trematodos y cestodos.
Gran parte de las infecciones se adquieren por la ingestión de huevos o larvas con la excepción de los anquilostomas, oxiuros de seres humanos y esquistosomas, cuyas larvas penetran la piel, y los filáridos transportados por vectores.
En términos generales, casi todas las infecciones intestinales por nematodos y cestodos acaecen por las formas adultas y no son muy patógenas, excepto si es muy grande el número de vermes. Gran parte de las alteraciones que ocasionan dependen de las etapas larvarias (como las microfilarias y las triquinas en el caso de los nematodos y los cisticercos y quistes hidatídicos en el caso de los cestodos).
En infecciones por trematodos, las alteraciones por lo común se vinculan con el parásito en su fase adulta, porque en ella afectan los tejidos humanos; por ejemplo, las duelas de hígado y de pulmón (las fases larvarias se producen en hospedadores animales o en otras fuentes).
La eosinofilia es un signo fundamental de infección tisular por vermes parásitos.
Los signos patológicos de los nematodos que infectan tejidos dependen íntimamente de la respuesta del hospedador. La reacción inmunopatológica a la reacción persistente por filarias como *Wuchereria* o *Brugia* son el engrosamiento enorme y anormal de las extremidades, los senos y los genitales.
Muchos helmintos no se multiplican en mecanismos asexuales en el hospedador humano: un huevo o una larva generan un verme. La excepción es *Echinococcus granulosus* que se multiplica en forma asexual en el interior de los quistes hidatídicos.
El único helminto intracelular es *Trichinella*, cuya fase larvaria acaece en el interior de un miocito (la célula nodriza).
Muchos vermes que se localizan en el interior del intestino pueden ser expulsados fácilmente, en tanto que los que se localizan en los tejidos, son difíciles de combatir con fármacos.
La intensidad de la enfermedad y los síntomas causados por las helmintosis, por lo común depende del gran número de vermes (por ejemplo, la anquilostomosis y la anemia).
Larva migratoria es el término utilizado cuando un nematodo en su fase larvaria que normalmente infecta un animal hospedador, migra y se desplaza en tejidos de humanos (como piel, vísceras y sistema nervioso central). El verme en su migración desencadena una intensa respuesta inmunitaria e induce el cuadro patológico. La larva migratoria se vincula con zoonosis en que los animales son los hospedadores normales y los humanos se infectan de forma accidental.
La combinación de deficiencias sanitarias, comportamientos de humanos y climas tropicales culmina en la elevada prevalencia de infecciones por nematodos transmitidos por la tierra (por *Ascaris*, tricocéfalos y anquilostomas).

vez ingeridos los huevos, las larvas nacen en el intestino delgado, en donde maduran y migran al colon.

Anatomía patológica y patogenia

El extremo anterior de los vermes se aloja en la mucosa intestinal y causa hemorragias pequeñas con destrucción de las células de esa capa e infiltración de eosinófilos, linfocitos y plasmacitos. Las infestaciones por un número pequeño de parásitos por lo común son asintomáticas, pero si el número es mediano o grande surgen dolor y distensión en la zona baja del vientre y diarrea. La infección intensa puede ocasionar diarrea sanguinolenta profusa, cólicos, tenesmo, urgencia para la defecación y prolapso rectal. A veces los vermes migran al apéndice y originan su inflamación (apendicitis).

ASCARIS LUMBRICOIDES (VERME REDONDO DE HUMANOS-NEMATODO INTESTINAL)

Organismo

Los ***áscaris*** adultos tienen gran tamaño: las hembras miden 20 a 50 cm de largo y los machos, 15 a 30 cm (fig. 46-14). Las personas se infestan después de ingerir los huevos; las larvas nacen en el duodeno, penetran su mucosa, migran hasta llegar al sistema circulatorio, se alojan en los capilares pulmonares y penetran en los alvéolos y de ahí migran desde los bronquíolos a la tráquea y la faringe; son deglutidas y vuelven al intestino y maduran hasta la forma adulta. Después de aparearse las hembras liberan 200 000 huevos al día que son expulsados por las heces. Los huevos son infectantes después de estar un mes, aproximadamente, en la tierra y conservan tal característica durante varios meses (fig. 46-14B).

Anatomía patológica y patogenia

Los vermes adultos, si se concentran en gran número, pueden ocasionar obstrucción mecánica del intestino y de los conductos biliares y pancreáticos. Los parásitos tienden a migrar si la persona recibe anestésicos y corticoesteroides y puede surgir perforación intestinal y peritonitis, expulsión de los parásitos, vómito y dolor abdominal. Las larvas, al migrar a través de los pulmones, inducen una respuesta inflamatoria (neumonitis), en particular después de la segunda infección, lo cual culmina en espasmo bronquial, producción de moco y síndrome de Löeffler (tos, eosinofilia e infiltrados en pulmones).

ANCYLOSTOMA DUODENALE Y *NECATOR AMERICANUS* (UNCINARIOSIS DE HUMANOS-NEMATODO INTESTINAL)

Organismo

Las **uncinarias** hembra tienen unos 10 mm de longitud; los machos son un poco menores y poseen como una característica

CUADRO 46-7 **Helmintos parásitos**

Helmintosis intestinales

Nematodos

Enterobius vermicularis (oxiuro)

Trichuris trichiura (tricocéfalo)

Ascaris lumbricoides (verme redondo de humano)

Ancylostoma duodenale y *Necator americanus* (anquilostomas de humanos)

Strongyloides stercoralis (oxiuro del humano)

Trichinella spiralis

Trematodos

Fasciolopsis buski (duela intestinal gigante)

Cestodos

Taenia saginata (solitaria o tenia de las reses)

Taenia solium (tenia de los cerdos)

Diphyllobothrium latum (tenia ancha de peces)

Hymenolepis nana (tenia enana)

Dipylidium caninum (tenia de perros)

Helmintosis de sangre y tejidos

Nematodos

Wuchereria bancrofti (filariosis linfática)

Brugia malayi (filariosis linfática)

Onchocerca volvulus (ceguera de los ríos)

Dracunculus medinensis (gusano de Guinea)

Ancylostoma duodenale y *Necator americanus* (roña de la tierra; véase Helmintosis intestinales)

Strongyloides stercoralis (larva currens; consúltese Helmintosis intestinales)

Trichinella spiralis (triquinelosis por larvas; consúltese Helmintosis intestinales)

Larva migratoria (zoonosis por nematodos en fase larvaria)

Ancylostoma caninum (anquilostoma del perro)

Anisakis simplex (anisacuosis)

Toxocara canis (verme redondo del perro)

Baylisascaris procyonis (gusano redondo del mapache)

Trematodos

Fasciola hepatica (duela del hígado de ovejas)

Clonorchis sinensis (duela hepática china)

Paragonimus westermani (duela pulmonar)

Schistosoma mansoni, *Schistosoma japonicum*, *Schistosoma haematobium* (duela de la sangre)

Cestodos (infecciones causadas por larvas)

Taenia solium (cisticercosis/neurocisticosis; consúltese Helmintosis intestinal)

Echinococcus granulosus (quiste hidatídico)

taxonómica una bolsa copulatoria (extremo posterior ensanchado), que usan para aparearse con las hembras. Ellas liberan más de 10 000 huevos al día en las heces, y de cada huevo es expulsada una larva en cuestión de 24 a 48 h (fig. 46-15A). Las larvas sobreviven en suelo húmedo durante varias semanas y esperan el paso de una persona descalza y descuidada; penetran en la piel del hospedador y migran en el cuerpo en forma similar a como lo hace *Ascaris*, para terminar en el intestino delgado en donde maduran hasta la forma de parásitos adultos.

Anatomía patológica y patogenia

En el intestino, los parásitos adultos se fijan a las vellosidades con su aparato bucal (fig. 46-15B) y succionan sangre y tejidos con el auxilio de una sustancia anticoagulante (Harrison et al., 2002). Unos cuantos cientos de parásitos en el intestino originan uncinariosis que se caracteriza por anemia intensa y ferropenia. Los síntomas también incluyen molestias abdominales y diarrea. La infección cutánea inicial por las larvas ocasiona un cuadro conocido como "dermatitis verminosa" caracterizada por eritema y prurito intenso. Los sitios de infección son los pies y los tobillos, por la exposición de ellos al caminar descalzo.

STRONGYLOIDES STERCORALIS (ESTRONGILOIDOSIS HUMANA-NEMATODO INTESTINAL Y TISULAR)

Organismo

Las hembras adultas (de 2 mm de largo en promedio) de ***Strongyloides stercoralis*** que viven en el intestino muestran partenogénesis, es decir, no necesitan de los machos para reproducirse. Depositan sus huevos en el intestino y de ellos nacen larvas que son expulsadas en las heces. Las larvas se desarrollan hasta llegar a las formas parasitarias o transformarse en parásitos macho o hembra de vida libre que se aparean y producen generaciones de vermes en la tierra, ejemplo notable de adaptación evolutiva para mantener una población. Las larvas de estas formas libres, en algunas situaciones ambientales, como medios cálidos, pueden transformarse en parásitos. Por lo expuesto, *Strongyloides stercoralis* posee una adaptación evolutiva peculiar que incrementa notablemente su eficiencia reproductiva.

Anatomía patológica y patogenia

Strongyloides, parásito de importancia en medicina, produce a veces reinfección o autoinfección internas si las larvas recién nacidas nunca abandonan al hospedador y en vez de ello experimentan sus transformaciones en el intestino. Dichas larvas penetran en el órgano en cuestión, emigran por todo el aparato circulatorio, llegan a los pulmones (fig. 46-16) y el corazón (en forma semejante a como migran las uncinarias después de penetrar la piel) para convertirse en hembras parasíticas dentro del intestino. Los nematodos estudiados pueden perpetuar una infección durante muchos años y en el caso de la inmunodepresión ocasionar una hiperinfección, en que hay un cuadro fulminante y mortal. En las infecciones diseminadas los signos y síntomas clínicos afectan predominantemente las vías gastrointestinales (diarrea intensa, dolor abdominal, hemorragia gastrointestinal, náusea y vómito), pulmones (tos, sibilancias, hemoptisis) y piel (erupción, prurito, larva migratoria). Las larvas que migran desde el intestino y que transportan bacterias intestinales pueden ocasionar infecciones locales y sepsis y culminar en la muerte.

CUADRO 46-8 Sinopsis de las helmintosis por sistemas orgánicos

Parásito/enfermedad	Sitio de infección	Mecanismo de infección	Estudios diagnósticos	Tratamiento	Área geográfica
Nematodos intestinales					
Enterobius vermicularis Oxiuro	Interior del ciego y colon	Ingestión de huevos; autocontaminación por comportamiento anal-oral	Prueba de cinta adhesiva; estudios microscópicos en busca de huevos	Pamoato de pirantel, mebendazol	Nivel mundial, áreas templadas
Trichuris trichiura Tricocéfalos	Ciego y colon	Ingestión de huevos de tierra o alimentos contaminados por heces	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos)	Mebendazol, albendazol	Nivel mundial, infestación frecuente
Ascaris lumbricoides Ascariosis, verme redondo común	Intestino delgado; migración de larvas por los pulmones	Ingestión de huevos de tierra o alimentos contaminados por heces	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos)	Albendazol, mebendazol	Nivel mundial, infestación muy frecuente
Ancylostoma duodenale, Necator americanus Anquilostomiasis humana	Intestino delgado; larvas a través de piel y pulmones	Las larvas de la tierra penetran la piel	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos)	Albendazol, mebendazol	Nivel mundial, trópicos
Strongyloides stercoralis Estrongiloidosis del ser humano	Intestino delgado; larvas a través de la piel y pulmones	Las larvas de la tierra penetran la piel y en raras ocasiones hay autorreinfección interna	Coproparasitoscópico, estudio de esputo y de material de lavado bronquial en busca de huevos y parásitos (larvas)	Ivermectina, albendazol	Nivel mundial, zonas tropicales y subtropicales
Trichinella spiralis Triquinosis	Los adultos en intestino delgado se alojan durante 1 a 4 meses; las larvas se enquistan en tejido muscular	Consumo de carne de cerdo y otro animal, mal cocida e infectada	Estudios serológicos y biopsia de músculo (larvas)	Albendazol (y esteroides en caso de síntomas intensos)	Nivel mundial
Trematodos intestinales					
Fasciolopsis buski Duela intestinal gigante	Intestino delgado	Ingestión de metacercarias enquistadas en la vegetación acuática	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos)	Prazicuantel	Oriente y sudeste de Asia
Cestodos intestinales					
Taenia saginata Teniosis bovina	Intestino delgado	Ingestión de cisticercos enquistados en carne mal cocida de res	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (proglótides)	Prazicuantel	África, México, Estados Unidos, Argentina, Europa en que se consume carne de res
Taenia solium Teniosis porcina (véase también Cisticercosis)	Intestino delgado	Ingestión de cisticercos enquistados en carne mal cocida de cerdo	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (proglótides)	Prazicuantel	Nivel mundial, en zonas en que se consume carne de cerdo, en particular México, América del Centro y el Sur y las Filipinas, sudeste asiático
Diphyllobothrium latum Tenia ancha de peces	Intestino delgado	Ingestión de larvas enquistadas en carne de pescado mal cocida	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos y proglótides)	Prazicuantel	Nivel mundial, en particular en zonas en las que se consume pescado crudo
Hymenolepsis nana Tenia enana	Intestino delgado	Ingestión de huevos de heces o agua contaminada; autorreinfección por la vía fecal/oral	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos, proglótides)	Prazicuantel	Nivel mundial

Dipylidium caninum Tenia del perro	Intestino delgado	Ingestión de larva en pulgas	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (proglótides)	Prazicuantel	Nivel mundial
Infecciones tisulares por nematodos					
Wuchereria bancrofti, *Brugia malayi* Filariosis	Vermes adultos en ganglios y conductos linfáticos	La picadura de mosquitos transmite las larvas	Extensión de sangre en busca de microfilarias	Dietilcarbamazina	Zonas tropicales y subtropicales, países subsaharianos, sudeste asiático, Pacífico occidental, India, América del Sur y países del Caribe
Onchocerca volvulus Oncocercosis Ceguera africana de los ríos	Adultos en nódulos cutáneos	La picadura de simúlidos transmite las larvas	Fragmentos de piel en busca de microfilarias; nódulos subcutáneos	Ivermectina	África tropical, América Central
Dracunculus medinensis Gusano de Guinea	Adultos en plano subcutáneo en piernas, tobillos y pies	Ingestión de agua contaminada con copépodos infectados	Gusano en ampolla cutánea	Extracción lenta del gusano alrededor de una varilla; extracción quirúrgica; tratamiento de la herida	Erradicación casi completa con excepción de unos cuantos países subsaharianos
Ancylostoma duodenale, *Necator americanus*, *Trichinella spiralis* *Strongyloides stercoralis*	Véase Nematodos intestinales				
Larva migratoria de nematodos					
Ancylostoma caninum y otros ancilostomas domésticos Larva migratoria CLM	Larvas migratorias subcutáneas	Contacto con tierra contaminada por heces de perro o gato	Exploración física y anamnesis	Albendazol, ivermectina, tiabendazol tópico	Zonas tropicales y subtropicales, ataque muy localizado pero también amplio
Anisakis simplex Anisaquiosis (VLM)	Vías gastrointestinales: larvas en pared de estómago o intestino; rara vez penetra vísceras	Ingestión de larvas en preparados de carne de peces marinados, crudos o mal cocidos	Endoscopia, radiología, eosinofilia	Extracción quirúrgica o endoscopia del gusano	Cuenca del Pacífico (Japón, California, Hawai); países escandinavos en que las personas consumen peces
Especies de *Toxocara* Vermes redondos de perros y gatos (VLM, OLM, NLM)	Larvas que migran en vísceras, hígado, pulmones, ojos, cerebro	Ingestión de huevos en tierra contaminada por heces de perro o gato	Estudios serológicos, eosinofilia	Albendazol, mebendazol	Nivel mundial, áreas en que defecan gatos y perros
Baylisascaris procyonis Verme redondo de mapaches (VLM, OLM, NLM)	Vísceras, sistema nervioso central; las larvas migran a ojos y cerebro	Ingestión de huevos por heces de mapache	Estudios serológicos (KR Kazacos, Dept Vet Med, Purdue Univ), eosinofilia, estudios neuroimagenológicos	Albendazol, mebendazol, corticoesteroides	América del Norte, Europa, áreas en que defecan los mapaches, letrinas de mapaches

(*continúa*)

CUADRO 46-8 Sinopsis de las helmintosis por sistemas orgánicos (*Continuación*)

Parásito/enfermedad	Sitio de infección	Mecanismo de infección	Estudios diagnósticos	Tratamiento	Área geográfica
Infecciones tisulares por nematodos					
Fasciola hepatica Fasciolosis Duela hepática de ovejas	Vermes adultos en el hígado (conductos biliares después de migrar por el parénquima)	Ingestión de metacercarias en berros de agua, vegetación acuática	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos)	Triclabendazol, bitionol	Nivel mundial, especialmente en zonas ovejeras
Clonorchis sinensis Clonorquiosis Duela hepática china	Vermes adultos en el hígado (conductos biliares)	Ingestión de metacercarias en peces mal cocidos de agua dulce	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos)	Prazicuantel	China, Corea, Indochina, Japón, Taiwán
Paragonimus westermani Paragonimosis Duela pulmonar	Vermes adultos en pulmones	Ingestión de metacercarias en carne cruda de cangrejos y otros crustáceos de agua dulce	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos; estudio de esputo y material de lavado bronquial (huevos)	Prazicuantel	Asia, América del centro, del sur y del norte, África,
Schistosoma mansoni Bilharziosis, duela de la sangre, esquistosoma	Adultos en venas de colon e hígado	Las cercarias (larvas) penetran la piel en agua infestada por caracoles	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos)	Prazicuantel	África y Cercano Oriente, zonas tropicales y subtropicales, América del Sur, países del Caribe
Schistosoma japonicum	Adultos en venas de intestino delgado e hígado	Las cercarias (larvas) penetran la piel en agua infestada por caracoles	Coproparasitoscópico en busca de huevos y parásitos (huevos)	Prazicuantel	China, Filipinas y Japón
Schistosoma haematobium	Adultos en venas de la vejiga	Las cercarias (larvas) penetran la piel en agua infestada por caracoles	Estudio de orina en busca de huevos y parásitos (huevos)	Prazicuantel	África, ampliamente; Madagascar; Oriente Medio
Infecciones tisulares por cestodos					
Taenia solium (larvas) Cisticercosis, neurocisticercosis (ataque al SNC)	Cisticercos en piel, hígado, pulmones, riñones, músculos, ojos y cerebro	Ingestión de huevos por la vía fecal-oral humana	CT, MRI, radiografías y estudios serológicos	Extirpación quirúrgica, albendazol, prazicuantel	Nivel mundial, especialmente en áreas porcícolas
Echinococcus granulosus (larval) Enfermedad hidatídica, quiste hidatídico unilocular	Quiste hidatídico en hígado, bazo, pulmones, peritoneo, cerebro	Contacto con perros, zorros, otros caninos	CT, MRI, radiografías y estudios serológicos	Albendazol, extirpación química	Nivel mundial especialmente en zonas ovejeras

CLM, larva migratoria cutánea; SNC, sistema nervioso central; CT, tomografía computadorizada; MRI, resonancia magnética; NLM, larva migratoria nerviosa; OLM, larva migratoria ocular; VLM, larva migratoria visceral.



FIGURA 46-12 *Enterobium vermicularis*. **A:** Hembra adulta del oxiuro (10 mm de longitud). **B:** Macho adulto del oxiuro (3 mm de largo). La prueba de la cinta adhesiva indica la presencia de huevos de oxiuro (50 a 60 µl de largo) con una larva infectante en su interior. (Con autorización de J Sullivan, *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

TRICHINELLA SPIRALIS (NEMATODO INTESTINAL Y TISULAR)

Microorganismo

El ser humano se infesta de ***Trichinella spiralis*** al consumir carne de cerdo cruda o mal cocida infectada con larvas de dichos nematodos. En el intestino delgado las larvas cambian a la forma de vermes adultos y, después de aparearse con los machos, las hembras liberan larvas vivas. Estas últimas penetran en el intestino, circulan por la sangre y al final se enquistan en tejido vascular. Las hembras viven algunas semanas y después de la primera semana de infestación pueden causar diarrea, dolor abdominal y náusea. Los síntomas intestinales son poco intensos o no surgen y a menudo el paciente no se percata del cuadro.

Anatomía patológica y patogenia

Las manifestaciones principales de la triquinelosis son causadas más bien por las larvas enquistadas en tejido muscular (fig. 46-17). La fase de migración en tejidos dura un mes, en promedio, y el enfermo muestra fiebre alta, tos y eosinofilia. Al enquistarse las larvas surge edema y las células de inflamación infiltran los tejidos (polimorfonucleares y eosinófilos). En término de cinco





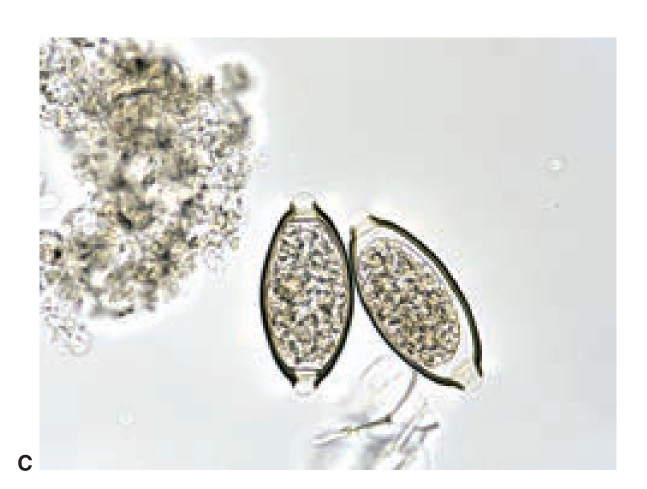


FIGURA 46-13 *Trichuris trichiura*. **A:** Hembra adulta de tricocéfalo (30 a 50 mm de largo). **B:** Macho adulto de tricocéfalo (30 a 45 mm). **C:** Huevos de tricocéfalo (50 µm) con tapones polares definidos. (Con autorización de J Sullivan, *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

a seis meses surge calcificación, en la cual a veces se destruyen las larvas. La infección es frecuente en músculos muy activos como el diafragma, la lengua, los maseteros, los intercostales y los músculos extraoculares. La persona puede sentir mialgias y debilidad e intensificarse la eosinofilia en los primeros seis meses, para después disminuir.

La triquinelosis es una enfermedad zoonótica; los seres humanos la adquieren al consumir carne de cerdo cruda o mal cocida (como serían embutidos caseros), pero constituyen el hospedador final. El ciclo vital se perpetúa en animales salvajes como osos y jabalíes o en animales domésticos, en que se produce la transmisión, por ejemplo, de un cerdo a otro.

FASCIOLOPSIS BUSKI (DUELA INTESTINAL GIGANTE-TREMATODO INTESTINAL)

Fasciolopsis buski, la duela intestinal gigante de personas y cerdos, se localiza en Asia y mide 20 a 75 mm de largo. Las metacercarias larvarias se enquistan en la vegetación como en el caso de las castañas y los abrojos de agua. Los parásitos son ingeridos con vegetales crudos, que después salen del quiste y maduran en el intestino. Muchas infecciones son leves y asintomáticas, pero si hay gran número de parásitos originan úlceras, abscesos de la pared intestinal, diarrea, y dolor y obstrucción intestinales.

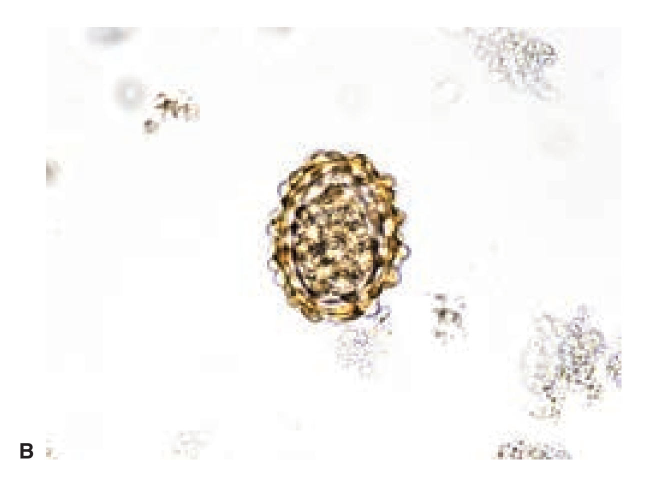



FIGURA 46-14 *Ascaris lumbricoides*. **A:** Las hembras adultas son más grandes que los machos adultos (la regla tiene 16 cm de longitud). **B:** Huevo de *Ascaris* (55 a 75 µm) con las protuberancias características (mamelonadas). (Con autorización de J Sullivan, *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

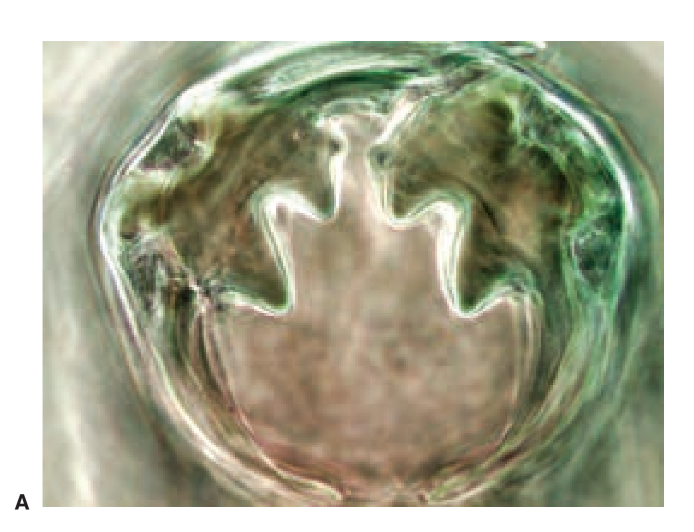
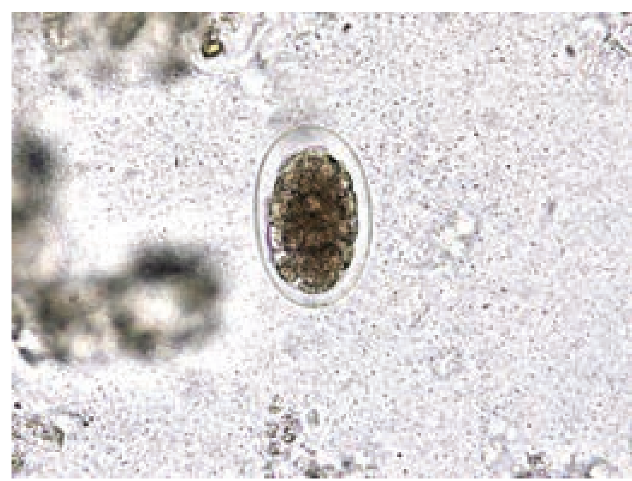



FIGURA 46-15 *Ancylostoma duodenale*. **A:** Ancilostoma adulto con dos pares de dientes en la cápsula bucal. **B:** Un huevo de pared fina de ancilostoma (60 a 75 µm) con segmentación temprana, obtenida de una prueba en busca de huevos y parásitos. (Con autorización de J Sullivan, *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)



FIGURA 46-16 Larvas de *Strongyloides stercoralis* y material de lavado bronquiolar. (Por cortesía de Norman Setijono, UCSF.)

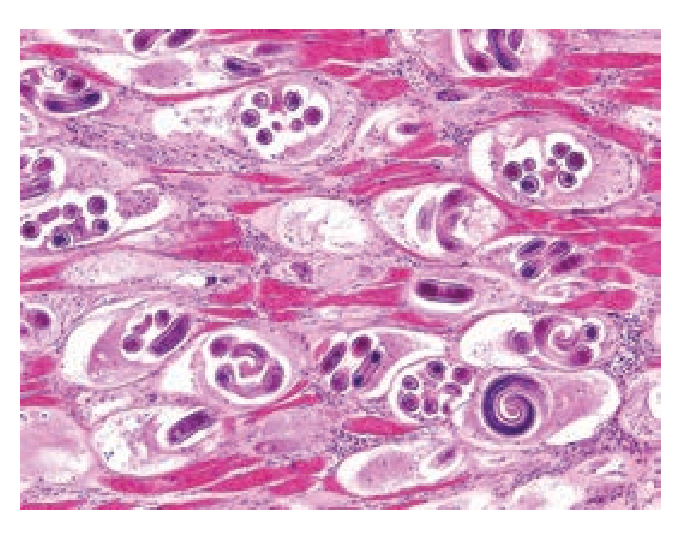


FIGURA 46-17 Larvas de *Trichinella spiralis* enquistados en tejido muscular. (Con autorización de J Sullivan, *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

TAENIA SAGINATA (TENIA DE LA RES-CESTODO INTESTINAL) Y *TAENIA SOLIUM* (TENIA DEL CERDO-CESTODO INTESTINAL Y TISULAR)

Organismos

Cuando las personas consumen carne de res o de cerdo cruda o mal cocida que contiene los cisticercos, larvas que se asemejan a vejiguitas, se infestan de ***T. saginata*** y ***T. solium*** respectivamente. Los cisticercos, que tienen aproximadamente el tamaño de un guisante o chícharo, terminan por transformarse en gusanos adultos que pueden tener varios metros de longitud en el intestino. Los parásitos adultos por lo común ocasionan pocos problemas y muchos no generan síntomas. Entre las manifestaciones intestinales de poca intensidad están diarrea y dolor abdominal.

En el intestino los segmentos terminales (proglótides) con huevos se desprenden del parásito adulto y son expulsados con las heces del ser humano. Si alguna vaca consume los huevos en las heces (*T. saginata*) o lo hace algún cerdo (*T. solium*), de los huevos nacen larvas que migran y se enquistan en la forma de cisticercos en diversos tejidos, que incluyen músculos en el ganado bovino o porcino. Las personas se infestan cuando consumen carne cruda o mal cocida que contiene cisticercos; después se desarrollan hasta la forma de parásitos adultos en el intestino de la persona.

Anatomía patológica y patogenia

Una diferencia importante desde el punto de vista médico entre *T. saginata* y *T. solium* es que los humanos constituyen hospedadores intermedios en el caso de *T. solium*, situación similar a la de los cerdos. En consecuencia, si los seres humanos ingieren los huevos de *T. solium*, los cisticercos se enquistan en diversos tejidos que incluyen piel, músculos (fig. 46-18A), riñones, corazón, hígado y cerebro (fig. 46-18B) y surge una situación conocida como cisticercosis, y sus manifestaciones dependen de los tejidos afectados (p. ej., disminución de la agudeza visual en el caso de la cisticercosis oftálmica; en la neurocisticercosis, las manifestaciones incluyen cefalea, náusea, vómito, alteraciones psíquicas y convulsiones causadas por los cisticercos enquistados en el cerebro). En el caso de la tenia *T. saginata* de la res, los vermes adultos se desarrollan sólo en las personas y en ellos no aparecen los cisticercos del parásito (solamente en ganado bovino u otros herbívoros).



A

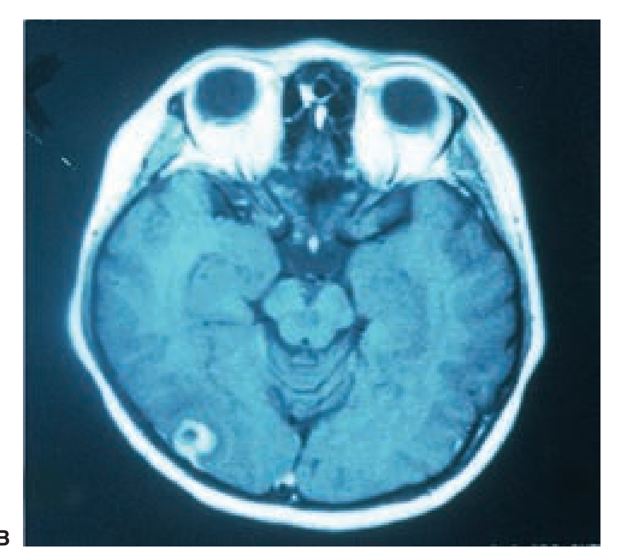

B

FIGURA 46-18 Cisticercos de *Taenia solium*. **A:** Varios cisticercos (formas larvarias) enquistados en músculo. (Con autorización de J Sullivan, *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.) **B:** Un cisticerco aislado, detectado por resonancia magnética en el cerebro. (Por cortesía del Departamento de Patología, UCSF.)

DIPHYLLOBOTHRIUM LATUM (TENIA ANCHA DE PECES-CESTODO INTESTINAL)

Organismo

Diphyllobothrium latum, la tenia ancha de peces, que parasita humanos (y otros animales piscívoros), alcanza un tamaño enorme, a veces 10 metros de largo. Los humanos se infestan cuando consumen carne de peces cruda o mal cocida, infectada con las larvas conocidas como plerocercoides, que se asemejan a pequeños granos de arroz en el parénquima. En los intestinos el parásito crece rápidamente y termina por mostrar una cadena de segmentos de los cuales pueden liberarse más de un millón de huevos al día.

Anatomía patológica y patogenia

El cuadro clínico causado por las tenias incluye molestias abdominales imprecisas y anorexia que culminan en el adelgazamiento. *D. latum* tiene la capacidad de absorber vitamina B_{12}, y en algunos grupos étnicos, en particular finlandeses, a veces aparece una hipovitaminosis B_{12} que causa niveles diversos de anemia perniciosa.

HYMENOLEPIS NANA (TENIA ENANA-CESTODO INTESTINAL)

Organismo

Hymenolepis nana, la tenia enana de personas (y roedores) tiene sólo unos 4 cm de largo. Es un parásito cosmopolita que se

encuentra en todo el mundo y causa una de las manifestaciones más frecuentes en personas, porque los huevos no pasan por la fase usual de desarrollo en un insecto; en vez de ello infectan a las personas directamente por medio de los huevos expulsados en las heces de otras personas (ciclo vital directo). Como otra posibilidad, si la persona consume inadvertidamente el insecto que tiene en su interior la fase larvaria, las larvas se transforman en parásitos adultos en el ser humano (ciclo vital indirecto). La infección puede producirse en ambas formas.

Anatomía patológica y patogenia

En ocasiones surgen infecciones masivas, predominantemente en niños, como consecuencia de autorreinfección interna, cuando de los huevos surgen larvas en el intestino, sin salir de este órgano. Salvo los casos comentados de infección extraordinariamente intensa, la enfermedad causada por tales parásitos se limita a pequeñas perturbaciones intestinales.

DIPYLIDIUM CANINUM (TENIA DE PERROS-CESTODO INTESTINAL)

Dipylidium caninum es un cestodo que normalmente infesta cánidos, félidos, y propietarios de mascotas, en particular niños. Los parásitos adultos están en los intestinos y liberan los característicos segmentos de doble poro que contienen cúmulos de huevos, y lo hacen a las heces del hospedador (fig. 46-19). Los huevos son ingeridos por larvas de pulgas, en las cuales el parásito se desarrolla y experimenta su fase larvaria. Las pulgas adultas infectadas aún tienen el parásito y a su vez son ingeridas por perros y gatos cuando lamen el sitio donde la pulga succionó sangre. Ante la íntima relación de humanos con sus mascotas (y sus pulgas), ellos adquieren la infección, pero en gran medida es asintomática. En los niños, la infección puede originar diarrea e inquietud.

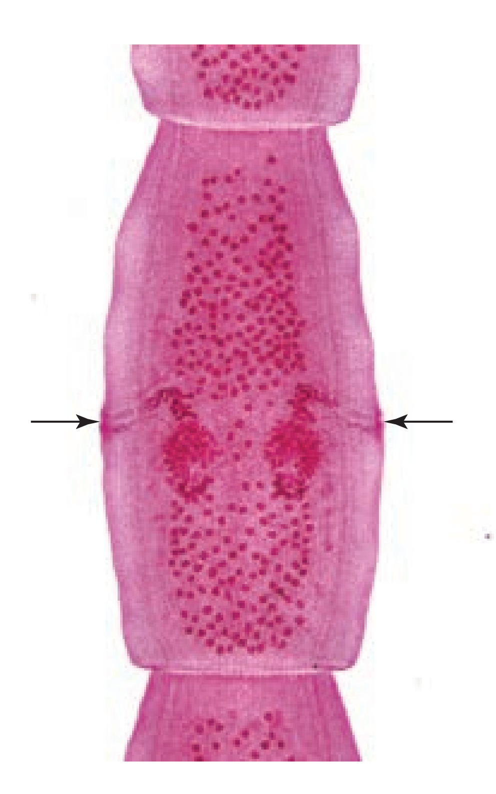


FIGURA 46-19 Proglótide de *Dipylidium caninum* (23 mm de largo × 8 de ancho) con características de semilla de calabaza y poros genitales (*flechas*) en ambos lados. (Con autorización de J Sullivan, *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

HELMINTOSIS DE SANGRE Y TEJIDOS

WUCHERERIA BANCROFTI Y *BRUGIA MALAYI* (FILARIOSIS LINFÁTICA-NEMATODOS TISULARES)

Organismos

Los nematodos de la familia de las filarias ***Wuchereria bancrofti***, ***Brugia malayi*** y *Onchocerca volvulus*, son gusanos largos finos cuyas formas adultas se localizan en los tejidos. La filariosis linfática es causada por los parásitos adultos de *Wuchereria bancrofti* y *Brugia malayi* y afecta más de 120 millones de personas en 80 países en zonas tropicales y subtropicales de Asia, África, Pacífico occidental y algunos países del Caribe y América del Sur. Las formas adultas de *W. bancrofti* y *B. malayi* (las hembras miden 60 a 100 mm de largo y los machos 15 a 40 mm) se alojan en los vasos linfáticos, en los que las hembras liberan en la linfa larvas pequeñas llamadas microfilarias. Estas últimas terminan en la sangre periférica y en ella se les identifica en momentos específicos del día, según las costumbres hematófagas del insecto vector (situación conocida como periodicidad). En el caso de *W. bancrofti* y *B. malayi*, la infección es transmitida por mosquitos y por ello la prevención se centra más bien en proteger contra sus picaduras. Las medidas de control personal incluyen el empleo de un repelente de insectos, mosquiteros y ropas protectoras.

Anatomía patológica o patogenia

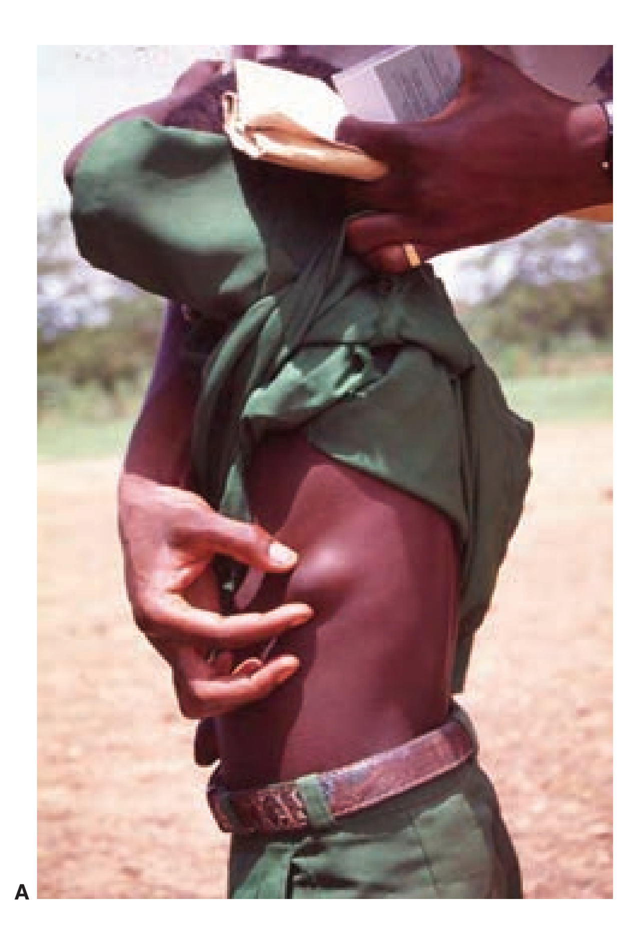
Los parásitos adultos dentro de los tejidos linfáticos constituyen la causa primaria de reacciones inflamatorias y fibróticas. Entre los signos y los síntomas de la infección aguda están linfangitis, acompañada de fiebre, edema, dolor en ganglios linfáticos e inflamación que se propaga a partir de los ganglios afectados. Se conoce como elefantiasis al agrandamiento anormal y burdo de extremidades, mamas y genitales que se observa en la infección crónica (fig. 46-20) y es una reacción inmunopatológica a las formas adultas maduras o en fase de muerte en los tejidos linfáticos.

ONCHOCERCA VOLVULUS (CEGUERA DE LOS RÍOS-NEMATODO TISULAR)

La Organización Mundial de la Salud calcula que la prevalencia global de oncocercosis excede los 17 millones de personas, de las cuales 270 000 están ciegas y otras 500 000 quedan con



FIGURA 46-20 Mujer con filariosis linfática. (Con autorización de la colección de imágenes de la OMS/TDR/Crump.)



A



B

FIGURA 46-21 *Onchocerca volvulus*. **A:** Palpación de un nódulo subcutáneo. (Con autorización de la colección de imágenes de OMS/TDR/Crump.) **B:** Los nódulos extirpados quirúrgicamente contuvieron gusanos adultos enrollados. (Con autorización del Departamento de Patología, UCSF.)

deficiencias visuales por el parásito. Muchas de las personas infectadas viven en África Occidental y Central, pero el trastorno también se ha detectado en Yemen y seis países del continente americano.

Organismo

Onchocerca volvulus es transmitido cuando las moscas negras infectadas del género *Simulium* se alimentan a través de la piel humana; los artrópodos mencionados no perforan los vasos sanguíneos con las piezas bucales finas y delicadas como lo hacen los mosquitos, en vez de ello la mosca infectante tritura la piel y se alimenta de la mezcla de ella y de sangre, sitio en que libera las larvas de *Onchocerca;* éstas se transforman en los parásitos adultos (las hembras miden 300 a 500 mm y los machos, 200 a 400 mm de largo), en los tejidos subcutáneos, en donde quedan encapsulados dentro del tejido del hospedador para formar un nódulo (oncocercoma) de 1 a 12 cm de diámetro (fig. 46-21). Las formas adultas se aparean y la hembra libera microfilarias que migran dentro de la piel. La mosca negra ingiere las microfilarias en el momento de su picadura y éstas se transforman dentro de la propia mosca en larvas infectantes después de una semana. Los artrópodos vectores necesitan ríos con corrientes rápidas y agua con alto contenido de oxígeno para sobrevivir, y por ello la enfermedad se conoce como "ceguera de los ríos".

Anatomía patológica y patogenia

En el caso de *Onchocerca*, el daño más intenso lo causan las microfilarias liberadas de las hembras. Las microfilarias migratorias que se localizan exclusivamente en el líquido intersticial de la piel y tejidos subdérmicos (*no* en la corriente sanguínea) originan cambios en el pigmento cutáneo y pérdida de fibras elásticas, lo cual causa una gran laxitud en la zona afectada, otros cambios de la piel y prurito intenso a veces rebelde e intolerable. Un trastorno mucho más grave es la ceguera que afecta a millones, principalmente en África (sobre todo varones). La pérdida de la visión evoluciona en el curso de años, y depende de la acumulación de microfilarias en el humor vítreo, porque estas formas parasitarias no están presentes en la sangre y se concen-

tran y permanecen en los líquidos del ojo. La visión borrosa, la fotofobia, y por último el daño de la retina culminan en ceguera incurable.

DRACUNCULUS MEDINENSIS (GUSANO DE GUINEA-NEMATODO TISULAR)

Organismo

Dracunculus medinensis, el gusano de Guinea, con características poco comunes, pasa por un ciclo acuático en que intervienen los copépodos ("pulgas de agua", un grupo abundante de microcrustáceos acuáticos). Los copépodos ingieren las larvas salidas de las vesículas cutáneas de seres humanos, que se rompen cuando la persona se sumerge en agua fría y queda en libertad un gran número de larvas. La persona de manera inadvertida ingiere los copépodos infectados al beber agua contaminada, no filtrada. Después de una migración en todo el cuerpo durante un año, los parásitos maduran y se aparean. Luego las hembras viajan a la piel (por lo común del miembro pélvico) en donde causan vesículas que se forman cerca del pie y del tobillo. Una de las formas mejores de aliviar el dolor y la irritación de las vesículas sería remojar la pierna afectada en agua fría; esta última estimula a la hembra del gusano de Guinea a liberar las larvas y así continúa el ciclo vital.

Anatomía patológica y patogenia

D. medinensis propicia cambios patológicos de diversa índole, con arreglo al sitio de infección del parásito adulto y la respuesta del hospedador a la presencia del gusano o a su extracción. Casi todos los cuadros patológicos causados por el gusano de Guinea son consecuencia de infecciones bacterianas secundarias; ellas pueden depender de sepsis en el punto en que sobresale el extremo anterior del gusano desde las vesículas cutáneas. Las formas adultas muertas (o fragmentos) en la piel pueden desencadenar infección intensa y al mismo tiempo gangrena o anafilaxia. Los parásitos en cuestión son causa importante de debilidad y pérdidas económicas en África, continente en el cual están en marcha intentos de control orientados a erradicar la enfermedad, y es probable que en cuestión de años la erradicación completa constituya una posibilidad neta.

LARVA MIGRATORIA (INFECCIONES ZOONÓTICAS POR LARVAS DE NEMATODOS)

Organismos

El cuadro de larva migratoria surge cuando los seres humanos se infectan con nematodos que normalmente parasitan hospedadores animales. Las personas son hospedadores terminales; las larvas se degeneran e inducen una respuesta inmunitaria al parásito muerto o en agonía y no se tornan reproductivamente maduros en los seres humanos. La eosinofilia es una característica frecuente y en el diagnóstico no son útiles los estudios coproparasitoscópicos en busca de huevos y parásitos. Se conocen varias formas de larva migratoria.

Anatomía patológica y patogenia

La larva migratoria cutánea (CLM, *cutaneous larva migrans*), llamada también roña de la piel, se adquiere cuando la piel sin protección (a menudo las manos y los pies) entran en contacto con las larvas de ***Ancylostoma caninum*** en la tierra, la **tenia del perro**; migran en las capas epiteliales de la piel y dejan en ella "trayectos" rojos pruriginosos. Signos de CLM son el eritema y las pápulas en el sitio de penetración, y los trayectos serpiginosos de inflamación y rubor.

La larva migratoria visceral (VLM, *visceral larva migrans*) es una entidad en que los mamíferos marinos como focas, delfines y ballenas constituyen los hospedadores normales de ***Anisakis*** (**anisaquiosis de la ballena**). Las larvas que tienen en promedio 15 mm de longitud aparecen en los hospedadores intermedios como el bacalao, el arenque, el salmón y el pescado de rocas, y si la persona accidentalmente consume su carne en forma cruda o mal cocida, surgirá invasión de la mucosa gástrica o de tejido intestinal y ocasionará dolor abdominal intenso que remeda el de la apendicitis o de la obstrucción intestinal. Se forman granulomas eosinófilos alrededor de las larvas en tejidos del estómago o de intestino, y las larvas migran y salen de las vías gastrointestinales.

Larva migratoria ocular (OLM, *ocular larva migrans*), y la larva migratoria del tejido nervioso (NLM, *neural larva migrans*), son entidades en que la ingestión de huevos de la **lombriz del perro** (***Toxocara canis***) y la **lombriz del mapache** (***Baylisascaris procyonis***) puede ocasionar las formas cutánea, visceral, ocular y nerviosa de la larva migratoria. Las larvas nacen de los huevos en el intestino y migran en toda la circulación. Se alojan en diversos tejidos, y como consecuencia, se forman granulomas alrededor de ellas. Entre los síntomas de la forma viceral están fiebre, hepatomegalia y eosinofilia; los de la forma ocular ocasionan disminución de la visión y ceguera en el ojo afectado. Una sola larva en el cerebro (neural) puede causar disfunción motora grave y ceguera, y las infecciones por las lombrices del mapache pueden ser mortales (Gabin et al., 2006).

CLONORCHIS SINENSIS (DUELA HEPÁTICA CHINA), *FASCIOLA HEPATICA* (DUELA HEPÁTICA DE LAS OVEJAS) Y *PARAGONIMUS WESTERMANI* (DUELA DEL PULMÓN)-TREMATODOS DE TEJIDOS

Organismos

Se calcula que más de 980 millones de personas del sudeste asiático y de la región occidental del Pacífico están en peligro de contraer una infección por *Clonorchis*, *Fasciola* y *Paragonimus*, transportados por alimentos (Keiser y Utzinger, 2005).

La ingestión de los alimentos mal cocidos o preparados de manera inapropiada, de productos de áreas endémicas, hace que los seres humanos sean infestados por ***Clonorchis***, porque ingieren las metacercarias enquistadas en peces de agua dulce (como la carpa); la ***Fasciola***, al ingerir metacercarias enquistadas en vegetales acuáticos como el berro de agua y ***Paragonimus*** al ingerir crustáceos hospedadores como los langostinos o el cangrejo de agua dulce (su carne deshebrada con aderezo de ensalada).

Anatomía patológica o patogenia

Las metacercarias de ***Clonorchis sinensis*** (duela hepática china) nacen del quiste en el intestino y migran hasta el colédoco, en donde se identifican incluso 500 a 1 000 o más parásitos adultos. Las duelas mencionadas irritan mecánicamente los conductos biliares, lo cual ocasiona fibrosis e hiperplasia. Si los parásitos están presentes en gran número, surge en la infección fiebre, escalofríos, dolor epigástrico y eosinofilia. La colangitis crónica puede culminar en atrofia del parénquima hepático, fibrosis porta, ictericia por obstrucción de vías biliares y cirrosis del hígado.

Fasciola hepática (duela hepática de oveja) que se detecta a menudo en criadores de ovejas, reses y otros herbívoros, penetra la pared intestinal, entra en la cavidad celómica, invade el tejido hepático y permanece en los conductos biliares. La infección aguda origina dolor abdominal, fiebre intermitente, eosinofilia, malestar general y adelgazamiento causado por daño hepático. La infección crónica puede ser asintomática y causar obstrucción intermitente de vías biliares.

Las metacercarias de la duela pulmonar del hombre ***Paragonimus westermani*** salen del quiste en el intestino humano y los vermes jóvenes migran a los pulmones en donde quedan encapsulados dentro de tejido pulmonar (fig. 46-22). Los huevos, liberados por vermes adultos, se desplazan hasta la tráquea y de ahí a la faringe para ser expectorados o deglutidos, y más adelante aparecen en las heces. Los huevos en el pulmón inducen una respuesta inflamatoria, pues alrededor de ellos se forman granulomas. Las duelas pulmonares adultas tienen el aspecto de nódulos blancos grisáceos de 1 cm de diámetro, dentro del pulmón, pero pueden identificarse parásitos en sitios ectópicos (cerebro, hígado y pared intestinal). Los síntomas de la tuberculosis pulmonar son similares a los de la paragonimiosis (tos y hemoptisis), razón por la cual es importante tomar en consideración en el diagnóstico diferencial la infección por la duela de pulmón.



FIGURA 46-22 En el cuadrante izquierdo superior de los pulmones en la radiografía de tórax se observan gusanos adultos de *Paragonimus westermani*. (Con autorización del Departamento de Radiología; UCSF.)

SCHISTOSOMA MANSONI, S. JAPONICUM Y *S. HAEMATOBIUM* (DUELAS DE LA SANGRE)

Organismos

Se ha calculado que más de 200 millones de personas a nivel mundial están infectadas con alguna especie de *Schistosoma*. Los parásitos adultos son largos y finos (los machos tienen 6 a 12 mm de longitud y las hembras, 7 a 17 mm) y pueden vivir en cópula 10 a 20 años dentro del sistema venoso (fig. 46-23A): ***S. mansoni:*** venas mesentéricas inferiores del colon; ***S. japonicum:*** venas mesentéricas inferior y superior del intestino delgado; ***S. haematobium:*** venas de la vejiga.

Los seres humanos se contagian de la infección cuando entran en contacto con agua contaminada con las cercarias infectantes. Éstas son atraídas por el calor del cuerpo y los lípidos cutáneos y comienzan a horadar la piel al descubierto. En término de 30 min las cercarias penetran la epidermis y se transforman en esquistosómulos que entran en la circulación periférica, en la cual se tornarán adultos en el sistema hepatoporta o los plexos venosos alrededor de la vejiga. Los esquistosomas hembra comienzan a liberar huevos cinco a ocho semanas luego de la infección.

Anatomía patológica y patogenia

El cuadro patológico más notable depende de los huevos de esquistosoma y no de los parásitos adultos. Los esquistosomas hembra pueden expulsar en el sistema venoso cientos o miles de huevos al día. Una vez libres los huevos, la circulación arrastra a muchos y los lleva al hígado (*S. mansoni* y *S. japonicum*) o la vejiga (*S. haematobium*), en tanto que otros más llegan al interior del intestino y son expulsados con las heces (*S. mansoni* y *S. japonicum*), o la orina (*S. haematobium*). Alrededor de los huevos surge una reacción granulomatosa y ello causa en el caso de *S. mansoni* y *S. japonicum* fibrosis del hígado. En situaciones crónicas queda obstruida la circulación sanguínea al hígado, lo cual ocasiona hipertensión porta, acumulación de líquido de ascitis en la cavidad abdominal, hepatoesplenomegalia y varices esofágicas.

En el caso de infecciones por *S. haematobium*, hay ataque a las vías urinarias: surgen dolor uretral, polaquiuria, disuria, hematuria y obstrucción vesical, lo cual originará infecciones bacterianas secundarias.

En personas que han viajado a países endémicos, entre los signos clínicos de la esquistosomosis aguda están la "erupción de los nadadores" que surge en término de una hora de que las cercarias penetraron la piel, seguida de cefalea, escalofríos, fiebre, diarrea y eosinofilia (conocida como fiebre de los caracoles o de Katayama), dos a 12 semanas después de la exposición (Salvana y King, 2008).

El diagnóstico se confirma por la identificación de huevos y parásitos en el estudio coproparasitoscópico: en las heces se identifican huevos de *S. mansoni* (espina o espícula lateral), y *S. japonicum* (espícula apenas visible); huevos de *S. haematobium* (espina o espícula terminal) en la orina (fig. 46-23).

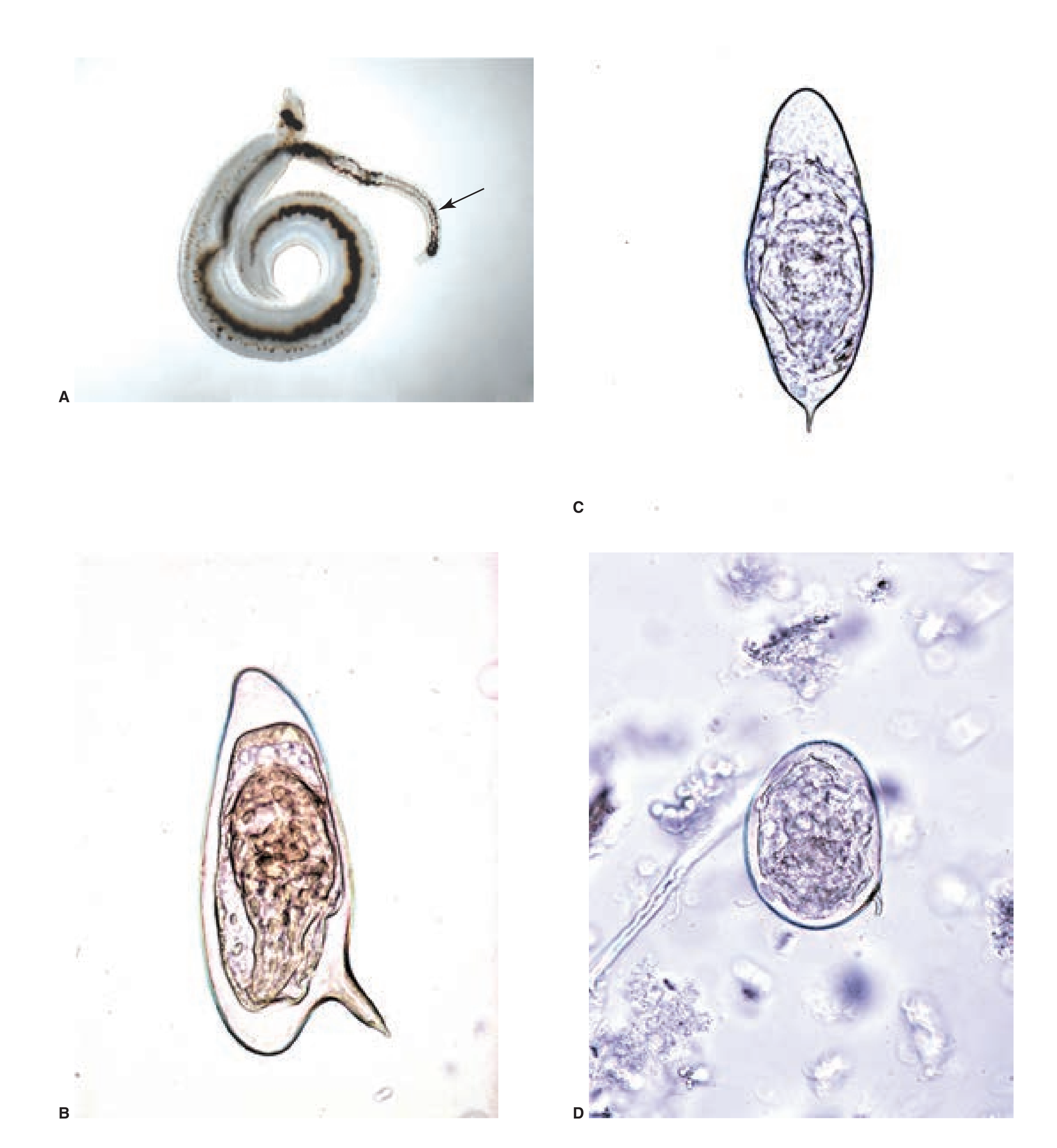


FIGURA 46-23 **A:** Formas adultas de *Schistosoma mansoni* en cópula. La hembra (*flecha*) queda dentro del conducto ginecóforo del macho. (Por cortesía de Conor Caffrey, Sandler Center, UCSF.) **B:** Huevo de *Schistosoma mansoni* con espícula lateral (110 a 175 μm de largo × 45 a 70 μm de ancho). **C:** Huevo de *Schistosoma haematobium* con espícula terminal (110 a 170 μm de largo × 40 a 70 μm de ancho). **D:** Huevo de *Schistosoma japonicum* con espícula corta (70 a 100 μm de largo × 55 a 65 μm de ancho). (Con autorización de J Sullivan, *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

INFECCIONES POR CESTODOS TISULARES (CAUSADAS POR LAS FASES LARVARIAS)

TAENIA SOLIUM-CISTICERCOSIS/ NEUROCISTICERCOSIS

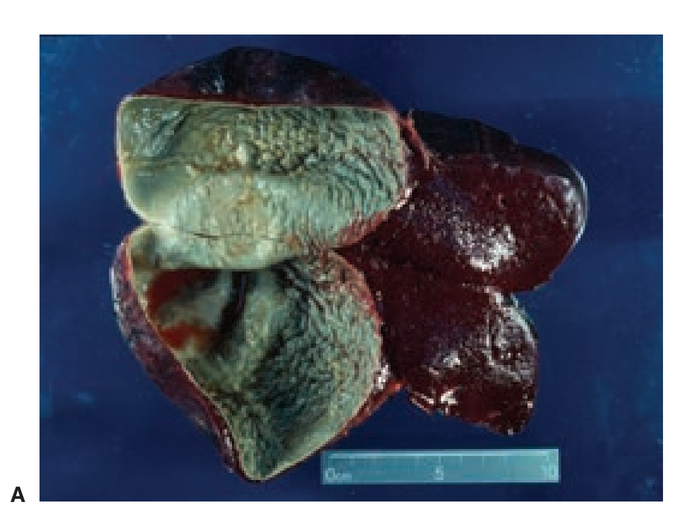
Consúltese el apartado de *T. solium* en la sección de helmintosis intestinales.

ECHINOCOCCUS GRANULOSUS (QUISTE HIDATÍDICO)

Organismo

Echinococcus granulosus es una tenia pequeña con tres segmentos o proglótides que se localizan solamente en el intestino de perros y otros cánidos. Los huevos salen de los hospedadores e infectan animales que pastan (herbívoros). En forma similar a lo que se observa con las tenias de la res y del cerdo, del huevo nace una larva que penetra el intestino y migra a tejidos, en particular hígado, bazo (fig. 46-24A), músculos y cerebro. En vez de transformarse en un cisticerco como ocurre en el caso de las tenias de la res y del cerdo, la larva de *Echinococcus* se transforma en un quiste lleno de líquido llamado quiste hidatídico. Contiene epitelio germinal en el que se desarrollan miles de futuras larvas (llamadas protoescólices) (fig. 46-24B). Dentro del quiste hidatídico los protoescólices están dentro de cápsulas germinativas. Al romperse el quiste hidatídico, las cápsulas pueden derramar el contenido, enviar metástasis a otros sitios y transformarse en otro quiste hidatídico. Por todo lo señalado, la ingestión de un solo huevo puede originar varios quistes hidatídicos y cada uno contiene algunas cápsulas incubadas o germinativas.

Los seres humanos se infectan solamente después de ingerir huevos de equinococos en heces de perros y este animal a su vez se contagia solamente de algún herbívoro infectado. Los humanos constituyen el único hospedador final de este parásito.



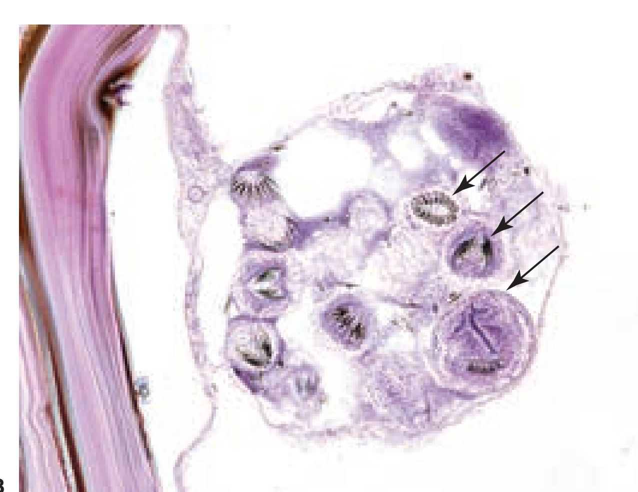


FIGURA 46-24 *Echinococcus granulosus.* **A:** Quiste hidatídico de 14 cm de una persona a la que se le extirpó el bazo. (Con autorización del Departamento de Patología, UCSF). **B:** Corte histológico de un quiste hidatídico en que se observan varios protoescólices (*flechas*) dentro de una cápsula de incubación. (Con autorización de J Sullivan, *A Color Atlas of Parasitology*, 8th ed., 2009.)

Anatomía patológica y patogenia

Los quistes hidatídicos crecen en promedio 1 a 7 cm cada año y los síntomas dependen del sitio en que están en el cuerpo. El hígado es el órgano afectado con mayor frecuencia y en él pueden surgir compresión, atrofia, hipertensión porta por obstrucción mecánica y cirrosis. Hay que tener enorme cuidado cuando se extraiga el quiste, pues si se rompe, el líquido altamente inmunógeno puede causar choque anafiláctico, y las cápsulas incubadas pueden enviar metástasis y con ello formar más quistes de este tipo.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. En una guardería privada, surge un brote de molestias intestinales leves, insomnio, prurito perianal y ansiedad en preescolares. La causa más probable es
   (A) *Trichomonas vaginalis*
   (B) *Enterobius vermicularis*
   (C) *Ascaris lumbricoides*
   (D) *Necator americanus*
   (E) *Entamoeba histolytica*
2. La enfermedad de Chagas es temida particularmente en países de América Latina, por los riesgos que impone al corazón y al sistema nervioso parasimpático y porque no se cuenta con un fármaco eficaz contra las etapas sintomáticas ulteriores. El paciente que se atiende planea residir en una aldea venezolana, uno o dos años. De las sugerencias siguientes, ¿cuál sería especialmente útil para evitar que se contagie de dicha enfermedad?
   (A) Hervir o tratar toda el agua potable
   (B) Dormir dentro de un mosquitero
   (C) No tener dentro de la vivienda mascotas
   (D) Nunca caminar descalzo en la tierra de la aldea
   (E) No comer lechugas u otras verduras crudas o frutas sin pelar
3. Un varón voluntario del Cuerpo de Paz de 32 años recientemente volvió de la zona de guerra en el área sur del Sudán, en África Central, después de dos años. Tiene notable esplenomegalia, hipergammaglobulinemia inespecífica y prueba cutánea negativa a la leishmanina (reacción de Montenegro). La fiebre leve aparece de forma irregular. La parasitosis más probable que tiene es
   (A) Paludismo
   (B) Leishmaniosis cutánea

(C) Leishmaniosis visceral
(D) Tripanosomosis
(E) Filariosis

4. Una mujer de 24 años sexualmente activa señala sentir prurito en la vagina y de ella mana una secreción purulenta fétida. Para corroborar el diagnóstico tentativo de tricomonosis, el clínico debe incluir algunas de las técnicas siguientes en su investigación:
(A) Estudios serológicos específicos
(B) Búsqueda de huevos y parásitos en una extensión de heces
(C) Preparación microscópica de líquido vaginal
(D) Método ELISA en suero
(E) Cultivo de heces

5. En un escenario peculiar, suponga el lector que trabaja en una clínica rural en China y una madre le lleva a su niña de tres años para atención. La menor está emaciada y después de estudios, su nivel de hemoglobina es de 5 g/100 ml. Tiene hinchados los pies y los tobillos, y una erupción intensa en pies, tobillos y rodillas. La parasitosis que muy probablemente ha causado el trastorno de la pequeña es
(A) Esquistosomosis
(B) Dermatitis por cercarias
(C) Ciclosporosis
(D) Uncinariosis
(E) Tricurosis
(F) Ascariosis

6. Los efectos patológicos de las filarias en humanos son causados por los parásitos adultos, en todos los casos, salvo en una especie. En tal situación el daño principal es producido por las microfilarias de
(A) *Brugia malayi*
(B) *Mansonella ozzardi*
(C) *Dracunculus medinensis*
(D) *Wuchereria bancrofti*
(E) *Onchocerca volvulus*

7. Un varón de 18 años señala sentir dolor abdominal, timpanismo, expulsión frecuente de heces diarreicas y pérdida de energía. Un mes antes volvió de una temporada de tres semanas de caminatas en el campamento de base del monte Everest en Nepal. La excursión abarcó solamente caminatas a grandes alturas, con rondas desde el punto inicial a cerca de 4 000 m de altura. De los factores siguientes, ¿cuál es el más importante para el diagnóstico?
(A) Exposición a dosis grandes de rayos ultravioleta
(B) La fuente y la purificación del agua
(C) El empleo de repelentes de insectos durante las caminatas
(D) La presencia de animales domésticos en los viajes
(E) La intensidad del contacto con los aldeanos en los viajes

8. De los métodos diagnósticos siguientes, ¿cuál debe practicarse en el paciente del apartado anterior?
(A) Estudio bacteriológico de sangre y orina
(B) Búsqueda de huevos y parásitos en estudios seriados y extensiones fecales
(C) ELISA o estudios serológicos de hemoaglutinación en busca de paludismo
(D) Búsqueda de microfilarias en un fragmento de piel
(E) Estudio endoscópico en busca de tricocéfalos

9. El parásito que con mayor probabilidad originó la enfermedad del paciente de la pregunta 7 es
(A) *Entamoeba coli*
(B) *Plasmodium vivax*
(C) *Trichomonas vaginalis*
(D) *Naegleria gruberi*
(E) *Giardia lamblia*

10. Según notificaciones, se supo que algunos aldeanos de Papúa Nueva Guinea que consumen carne de cerdo durante celebraciones presentaron un brote de convulsiones epileptiformes. Uno de los primeros factores que es necesario investigar es
(A) La prevalencia de infecciones por *Ascaris* en la población
(B) La presencia de *Toxoplasma gondii* en gatos
(C) La presencia de *Trypanosoma brucei gambiense* en los aldeanos
(D) La presencia de huevos de *Taenia* en el agua potable
(E) La presencia de *Taenia solium* en su forma adulta, en los cerdos.

11. Un turista de 32 años viajó al Senegal, donde estuvo un mes. En el viaje, se bañó en el río Gambia. Dos meses después de su regreso refirió dolor intermitente en la mitad baja del vientre, con disuria. Los resultados de estudios de laboratorio en que se buscaron huevos y parásitos indicaron que los huevos tenían una espícula terminal. De los siguientes parásitos, ¿cuál sería la causa de los síntomas del enfermo?
(A) *Toxoplasma gondii*
(B) *Schistosoma mansoni*
(C) *Schistosoma haematobium*
(D) *Ascaris lumbricoides*
(E) *Taenia solium*

12. Con base en la respuesta de la pregunta anterior, ¿qué tipo de muestra se debería obtener para el análisis de laboratorio?
(A) Extensión de gota gruesa de sangre
(B) Muestra de heces
(C) Muestra de orina
(D) Sangre para estudio serológico
(E) Muestra de esputo

13. Una mujer de 23 años que había estado sana retornó en fecha reciente de sus vacaciones después de visitar a algunos amigos en Arizona. Señaló que sentía cefaleas intensas, veía “destellos luminosos” y por las vías nasales manaba una secreción purulenta. Fue hospitalizada con el diagnóstico de meningitis bacteriana y falleció cinco días después. De los parásitos siguientes, ¿cuál habría que considerar en el diagnóstico? La paciente no tenía antecedentes de viajar fuera de Estados Unidos.
(A) *Plasmodium falciparum*
(B) *Toxoplasma gondii*
(C) *Strongyloides stercoralis*
(D) *Entamoeba histolytica*
(E) *Naegleria fowleri*

14. ¿En qué forma la paciente de la pregunta previa se contaminó del parásito?
(A) Ingestión de quistes en el agua potable contaminada por heces
(B) Consumo de peces mal cocidos
(C) Consumo de carne de res mal cocida
(D) Caminar descalza en el parque
(E) Practicar el coito sin protección
(F) Ser mordida por una mosca de la arena
(G) Bañarse en aguas termales naturales

15. Un criador de ovejas de 37 años de Australia acude con dolor en el cuadrante derecho superior del vientre y su color es levemente ictérico. Después del estudio de heces no se detectaron huevos ni parásitos, pero la tomografía computadorizada del hígado indicó que tenía un gran quiste de 14 cm que al parecer contenía líquido. De los siguientes parásitos, ¿cuál sería el que muy probablemente lo infectó?
(A) *Toxoplasma gondii*
(B) *Taenia solium*
(C) *Taenia saginata*
(D) *Clonorchis sinensis*
(E) *Schistosoma mansoni*
(F) *Echinococcus granulosus*
(G) *Paragonimus westermani*

16. Una mujer de 38 años al parecer cansada pero alerta estuvo seis meses como maestra en una escuela rural de un poblado de Tailandia. Sus manifestaciones principales incluyeron cefaleas frecuentes, náusea y vómito ocasionales y fiebre periódica. El clínico sospecha paludismo y detecta parásitos en eritrocitos en una extensión delgada de la sangre obtenida por pinchazo de dedo. Para descartar la posibilidad de la forma peligrosa por *P. falciparum*, ¿cuál de los elementos siguientes concordaría con el diagnóstico de paludismo por *Plasmodium falciparum* con base en el estudio microscópico de la extensión de sangre?
    (A) Innumerables parásitos ovoides grandes en algunos de los eritrocitos
    (B) Eritrocitos agrandados parasitados, pero con contornos irregulares
    (C) Parásitos en fase de división (esquizontes, en eritrocitos, con ocho a 12 hijos)
    (D) Parásitos en fase de división en los eritrocitos, con 16 a 24 hijos
    (E) Formas con doble anillo, en la extensión
17. Ante la confirmación del diagnóstico de paludismo por *Plasmodium falciparum* en el paciente de la pregunta 16, ¿cuál de los siguientes regímenes terapéuticos sería el apropiado?
    (A) Proguanil oral y además atovacuona
    (B) Cloroquina oral
    (C) Cloroquina intravenosa
    (D) Proguanil oral
    (E) Quinidina intravenosa
18. Después de confirmar el diagnóstico de paludismo por *Plasmodium falciparum*, el clínico debe orientar al paciente de la pregunta previa, en uno de los aspectos siguientes:
    (A) Son pocas las posibilidades de recidiva en un plazo de uno a tres años
    (B) Existe una gran posibilidad de que por la resistencia se necesiten ciclos adicionales de tratamiento
    (C) La vuelta a los trópicos sería peligrosa porque quizá surgió hipersensibilidad al parásito
    (D) La persona debe evitar las picaduras de mosquito en el país en que está, porque podrían inducir una recaída del paludismo
    (E) Un ciclo de primaquina para eliminar los hipnozoítos del hígado y así evitar que aparezca el paludismo de la variedad falciparum
19. ¿A cuál de los elementos siguientes se podría atribuir la gravedad de la infección por *Plasmodium falciparum*, en comparación con las otras tres formas de paludismo?
    (A) La destrucción de los leucocitos detendrá la reacción inmunitaria contra el paludismo
    (B) Hay destrucción, en gran medida, de los blastos en la médula ósea
    (C) Puede surgir daño extenso del hígado durante la fase preeritrocítica del ciclo del parásito
    (D) Los parásitos en la sangre invaden de nuevo el hígado e inducen un cuadro más grave
    (E) Los eritrocitos infectados y de formas irregulares se adhieren al endotelio de los vasos y bloquean el paso de sangre por ellos
20. Se hizo el diagnóstico de amebosis intestinal en un varón de 52 años que volvió de un viaje por la India y el sudeste asiático y se obtuvieron buenos resultados con el tratamiento a base de yodoquinol. Un mes más tarde retornó a la clínica y señaló que tenía alguna de las manifestaciones siguientes, de las cuales una muy probablemente fue consecuencia de la amebosis sistémica (a pesar de que la infección intestinal al parecer curó).
    (A) Fiebre periódica alta
    (B) Orina sanguinolenta
    (C) Hígado doloroso al tacto y agrandado
    (D) Lesión cutánea húmeda
    (E) Bazo agrandado y doloroso

Respuestas

1. B	6. E	11. C	16. E
2. B	7. B	12. C	17. A
3. C	8. B	13. E	18. A
4. C	9. E	14. G	19. E
5. D	10. D	15. F	20. C

BIBLIOGRAFÍA

Abdalla SH, Pasvol G, Hoffman SL (editors): *Malaria: A Hematological Perspective*. Imperial College Press, 2004.

Ash LR, Orihel, TC: *Atlas of Human Parasitology*, 5th ed. American Society of Clinical Pathology Press, 2007.

Baird JK, Hoffman SL: Primaquine therapy for malaria. Clin Infect Dis 2004;39:1336.

Centers for Disease Control and Prevention: Parasitic diseases (www.cdc.gov/ncidod/dpd/).

Cook GC, Zumk A (editors): *Manson's Tropical Diseases*, 21st ed. Saunders, 2003.

Despommier DD, Gwadz RW, Hotez PJ, Knirsch CA (editors): *Parasitic Diseases*, 5th ed. Apple Trees Productions, 2005.

Drugs for parasitic infections. Treatment Guidelines from *The Medical Letter*, vol. 5, 2007.

Garcia LS: *Diagnostic Medical Parasitology*, 5th ed. American Society for Microbiology, 2007.

Gavin PJ, Kazacos KR, Shulman ST: Baylisascariasis. Clin Microbiol Rev 2005;18:703.

Goldsmith RS, Heyneman D (editors): *Tropical Medicine and Parasitology*. Appleton & Lange, 1989.

Goldsmith RS: Infectious diseases: Protozoal and helminthic. In: *Current Medical Diagnosis & Treatment 2006*. Tierney LM Jr, McPhee SJ, Papadakis MA (editors). McGraw-Hill, 2006.

Gomes ML, Galvao LMC, Macedo AM et al: Chagas' disease diagnosis: Comparative analysis of parasitologic, molecular, and serologic methods. Am J Trop Med Hyg 1999;60:205.

Guerrant RL, Walker DH, Weller PF (editors): *Tropical Infectious Diseases Principles, Pathogens, & Practice*, 2nd ed. Churchill Livingstone. Elsevier, 2 vols, 2006.

Haque R, Huston CD, Hughes M et al: Current concepts: Amebiasis. N Engl J Med 2003;348:1565.

Harrison LM, Nerlinger A, Bungiro RD et al: Molecular characterization of *Ancylostoma* inhibitors of coagulation factor Xa. J Biol Chem 2002;277:6223.

Herwaldt BL: *Cyclospora cayetanensis:* A review, focusing on the outbreaks of cyclosporiasis in the 1990s. Clin Micro Rev 2000;31:1040.

Keiser J, Utzinger J: Emerging foodborne trematodiasis. Emerg Infect Dis 2005;11:1507.

Long CA, Hoffman SL: Parasitology. Malaria—from infants to genomics to vaccines. Science 2002;297:345.

Mahmoud AAF (editor): *Schistosomiasis*. Imperial College Press, 2001.

McKerrow J, Parslow TG: Parasitic diseases. In: *Medical Immunology*, 10th ed. Parslow TG et al (editors). McGraw-Hill, 2001.

The Merck Manuals Online Medical Library (www.merck.com/mmpe/index.html).

Orihel TC, Ash LR: *Parasites in Human Tissues*. American Society of Clinical Pathology Press, 1995.

Peters W, Pasvol G: *Tropical Medicine & Parasitology*, 5th ed. Mosby, 2002.

Roberts LS, Janovy J Jr: *Foundations of Parasitology*, 8th ed. McGraw-Hill Higher Education, 2009.
Rosenthal PJ: Chap 52 Antiprotozoal drugs. In: *Basic and Clinical Pharmacology*, 11th ed. Katzung BG, Trevor A, Masters S (editors). McGraw-Hill, 2009.
Rowley HA, Uht RM, Kazacos KR et al: Radiologic-pathologic findings in raccoon roundworm (*Baylisascaris procyonis*) encephalitis. Am J Neuroradiol 2000;21:415.
Salvana EMT, King CH: Schistosomiasis in travelers and immigrants. Curr Infect Dis Reports 2008;10:42.
Stanley SL: Amoebiasis. Lancet 2003;361:1025.
Strickland GT: *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases*. Saunders, 2000.
Warrell DA, Gilles HM (eds): *Essential Microbiology*, 4th ed. Arnold Press, 2002.
Wilson WR, Sande MA (editors): *Current Diagnosis & Treatment in Infectious Diseases*. McGraw-Hill, 2001.
World Health Organization: World Malaria Report 2005 (http://rbm.who.int/wmr2005/).
World Health Organization: Leishmaniasis: Burden of disease 2009 (www.who.int/leishmaniasis/burden/en/).
Xiao L, Fayer R, Ryan U et al: *Cryptosporidium* taxonomy: Recent advances and implications for public health. Clin Microbiol Rev 2004;17:72.



SECCIÓN VII CORRELACIÓN ENTRE LA MICROBIOLOGÍA MÉDICA DIAGNÓSTICA Y LA CLÍNICA

CAPÍTULO

47

Principios de microbiología médica diagnóstica

La microbiología médica diagnóstica se ocupa del diagnóstico etiológico de las infecciones. Los métodos de laboratorio usados en el diagnóstico de dichas enfermedades en los seres humanos incluyen:

1. Identificación morfológica del agente en muestras o cortes de tejidos teñidos (observados con microscopio de luz o electrónico).
2. Aislamiento en cultivo e identificación del agente.
3. Detección del antígeno propio del agente, por métodos inmunológicos (aglutinación en látex, enzimoinmunoanálisis [EIA], etc.) o por medio de métodos de tinción de anticuerpos marcados con fluoresceína (o con peroxidasa).
4. Hibridación a base de DNA-DNA o DNA-RNA para detectar genes específicos de patógenos en muestras de los pacientes.
5. Detección y amplificación del ácido nucleico de un microorganismo en muestras del paciente.
6. Demostración de respuestas inmunitarias significativas mediadas por anticuerpos o células, contra un agente infeccioso.

En el terreno de la infectología los resultados de estudios de laboratorio dependen en gran medida de la buena calidad de la muestra, la fecha oportuna y el cuidado con que se le obtuvo y la eficiencia y la experiencia técnicas del personal de laboratorio. Muchos médicos son competentes en la práctica de algunos métodos sencillos y definitivos de tipo microbiológico, es decir, elaborar y teñir una extensión (frotis), examinarla con el microscopio o inocular la muestra en medio de cultivo, pero los detalles de métodos más complejos por lo común son del dominio del bacteriólogo o del virólogo y de los técnicos del personal especializado. Los médicos que tratan cuadros infecciosos deben saber el momento y la forma de obtener las muestras, el tipo de estudios de laboratorio que deben solicitar y la forma de interpretar los resultados. El capítulo presente se ocupa de los aspectos de la microbiología diagnóstica en enfermedades por bacterias, hongos, clamidias y virus. El diagnóstico de parasitosis se expuso en el capítulo 46.

COMUNICACIÓN ENTRE EL MÉDICO Y EL LABORATORIO

La microbiología diagnóstica comprende la identificación y la definición de miles de agentes que causan enfermedades infecciosas o que están vinculadas con ellas. Las técnicas para definir los agentes infecciosos varían en gran medida con cada síndrome clínico y con el tipo de agente en consideración, sean virus, bacterias, hongos u otros parásitos. Con una sola prueba será imposible el aislamiento o la definición de todos los patógenos posibles, y por ello la información clínica adquiere mayor importancia en la microbiología diagnóstica, que en la bioquímica o la hematología clínica. El clínico debe hacer un diagnóstico preliminar y no esperar a que se obtengan los resultados de estudios de laboratorio. Cuando solicite la práctica de tales procedimientos, debe señalar al personal de laboratorio el diagnóstico anticipado (tipo de infección o agente infeccioso sospechado). El etiquetado preciso de las muestras incluye los datos clínicos en cuestión y también los que identifican a cada paciente (como mínimo, dos métodos de identificación definitiva), el nombre del médico solicitante y la información pertinente para el contacto.

Muchos microorganismos patógenos proliferan con lentitud y pueden transcurrir días o semanas para su aislamiento e identificación. Será mejor no diferir el tratamiento mientras se completa el proceso mencionado. Después de obtener las muestras apropiadas y de señalar al personal de laboratorio el diagnóstico clínico preliminar, el médico comenzará el tratamiento con fármacos que combatan al microorganismo que, en su opinión, ha causado la enfermedad. Conforme el personal mencionado comienza a obtener resultados se los transmitirá al médico, que en ese momento podrá revalorar el diagnóstico y la evolución clínica de su paciente y tal vez cambiar en alguna forma el programa terapéutico. Esta información de "retroalimentación" desde el laboratorio comprende los informes preliminares de los resultados de etapas individuales en el aislamiento y la identificación del agente causal.

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES POR BACTERIAS Y HONGOS

Muestras

Los métodos de laboratorio por lo común comprenden el estudio microscópico de materiales que se han obtenido sin teñir y tejidos, y la preparación de cultivos con medios idóneos para la proliferación de mecanismos muy diversos, incluido el tipo de microorganismo que muy probablemente causa la enfermedad, con base en los datos clínicos. Una vez aislado el microorganismo, se intentará su identificación cabal. Los gérmenes aislados serán sometidos a pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos (antibioticograma). Una vez aislados los patógenos importantes, antes del tratamiento, puede ser conveniente que se repitan estudios de laboratorio como formas de vigilancia, durante el tratamiento y después de terminado.

La muestra obtenida de la manera más adecuada constituye el elemento más importante para el diagnóstico de una infección, porque los resultados de los procedimientos de ese tipo en el caso de enfermedades infecciosas dependen de la selección, la fecha adecuada y los métodos de colección de las muestras. Las bacterias y los hongos proliferan y mueren, son susceptibles a muchas sustancias químicas, y aparecen en sitios anatómicos, líquidos y tejidos corporales diferentes en el curso de las enfermedades infecciosas.

El aislamiento del agente asume tanta importancia en la confirmación de un diagnóstico que la muestra debe ser obtenida del sitio que mayores probabilidades tenga de incluirlo en la etapa particular de la enfermedad, y debe ser manejado de forma tal que permita y facilite la supervivencia y la proliferación del germen. En el caso de cada tipo de muestra, se señalan en los párrafos siguientes y en la sección del diagnóstico con base en el sitio anatómico, las sugerencias para su manejo óptimo.

El aislamiento de las bacterias y los hongos asume máxima importancia si el agente es aislado de un sitio en el que normalmente no hay microorganismos (un área estéril). Cualquier tipo de microorganismo cultivado de sangre, líquidos cefalorraquídeo o articular o de la cavidad pleural, constituye un hallazgo diagnóstico notable. Por lo contrario, muchas zonas del cuerpo normalmente tienen microbiotas (cap. 10) que pueden ser alteradas por influencias endógenas o exógenas. Es importante considerar dentro del contexto de las microbiotas normales de cada sitio particular el aislamiento de posibles patógenos de vías respiratorias, gastrointestinales o genitourinarias; de heridas, o de la piel. Es necesario establecer correlación de los datos microbiológicos con la información clínica y así obtener una interpretación significativa de los resultados.

Algunas normas generales válidas para todas las muestras son:

1. La cantidad del material debe ser adecuada.
2. La muestra debe ser representativa del cuadro infeccioso (p. ej., esputo, no saliva; pus de la lesión subyacente y no de un trayecto fistuloso; material para extensiones del plano profundo de la herida y no de su superficie).
3. Es necesario no contaminar la muestra, y para ello habrá que utilizar sólo equipo estéril y precauciones asépticas.
4. La muestra debe ser transportada inmediatamente al laboratorio y estudiada. Algunos medios especiales de transporte podrán ser útiles.
5. Es importante contar con muestras significativas para diagnosticar infecciones bacterianas y micóticas, antes de administrar cualquier antimicrobiano. Si se administran dichos fármacos antes de obtener muestras para estudio microbiológico, habrá que interrumpir la farmacoterapia y repetir la obtención varios días después.

El tipo de muestra por estudiar depende del cuadro clínico inicial. Si los síntomas y los signos denotan la afección de cualquier órgano o sistema, las muestras se obtendrán de esa fuente. En caso de no haber signos o síntomas de localización, en primer lugar se obtendrán muestras repetidas de sangre y se considerará la obtención en serie de muestras de otros sitios, según la zona en que hay mayor posibilidad de afección de un órgano o sistema particular en un paciente preciso, y en parte, de la facilidad de obtener las muestras.

Estudio microscópico y tinciones

El estudio microscópico de muestras teñidas o no teñidas es un método relativamente sencillo y barato, pero menos sensible que el cultivo para la detección de un número pequeño de bacterias. La muestra debe contener como mínimo 10^5 microorganismos por mililitro para detectar los gérmenes en una extensión. El medio líquido que contiene 10^5 microorganismos por mililitro no es turbio a simple vista. Las muestras que contienen 10^2 a 10^3 microorganismos por mililitro permiten la proliferación de ellos en medios sólidos y las que tienen 10 bacterias o menos por mililitro pueden inducir la proliferación en medios líquidos.

La tinción con el método de Gram es una técnica muy útil en la microbiología diagnóstica. Casi todas las muestras en casos en que se sospecha una infección bacteriana deben ser colocadas en extensiones (frotis) en laminillas (portaobjetos), se teñirán con el método de Gram y se estudiarán microscópicamente. En el cuadro 47-1 se señalan los materiales y el método para hacer tal tinción. En el estudio microscópico, habrá que identificar en primer lugar la reacción de Gram en las bacterias (el color azul violáceo denota la presencia de microorganismos grampositivos; el color rojo, gramnegativos), y su morfología (forma: cocos, bacterias, fusiformes u otros; consúltese el cap. 2). Las características de las bacterias en extensiones teñidas con técnica de Gram no permiten identificar su especie. El informe de cocos grampositivos en cadenas es sugerente pero no definitivo en cuanto a la presencia de especies de estreptococos; los cúmulos de cocos grampositivos sugieren la presencia de una especie de estafilococos. La bacterias gramnegativas pueden ser grandes, pequeñas o incluso de la variedad cocobacilar. Algunas bacterias grampositivas no viables pueden mostrar características de tinción gramnegativas. De manera típica se ha definido la morfología bacteriana con el empleo de microorganismos que han proliferado en agar. Sin embargo, tienen una morfología muy variable las bacterias en líquidos o tejidos corporales.

En la búsqueda de micobacterias habrá que teñir las muestras con técnicas para microorganismos acidorresistentes, es decir, **tinciones de Ziehl-Neelsen** o de **Kinyoun** (cuadro 47-1). Otra tinción fluorescente útil en micobacterias, la de auramina-rodamina, es más sensible que las demás tinciones para identificar microorganismos acidorresistentes, pero para ello se necesita microscopio de fluorescencia y, si los resultados son positivos, confirmar la morfología con una tinción para bacilos acidorresistentes (cap. 23).

La **tinción de anticuerpos inmunofluorescentes** (IF, *immunofluorescent antibody staining*) es útil para identificar innumerables microorganismos. Los métodos de esta categoría son más específicos que otras técnicas de tinción, pero su realización es más lenta y difícil. Los anticuerpos marcados con fluoresceína,

CUADRO 47-1 Métodos de tinción de Gram y para acidorresistentes

Tinción de Gram

1) Fijar la extensión con calor o usar metanol
2) Cubrir con cristal violeta
3) Lavar con agua. No secar
4) Cubrir con solución de Gram yodada
5) Lavar con agua. No secar
6) Aclarar 10 a 30 s con agitación suave en acetona (30 ml) y alcohol (70 ml)
7) Lavar con agua. No secar
8) Cubrir durante 10 a 30 s con safranina (solución al 2.5% en alcohol al 95%)
9) Lavar con agua y dejar secar

Tinción de Ziehl-Neelsen para acidorresistentes

1) Fijar la extensión con calor
2) Cubrir con carbolfucsina, calentar suavemente 5 min sobre la llama directa (o 20 min en baño María). No se permitirá que las extensiones hiervan o se sequen
3) Lavar con agua desionizada
4) Decolorar con una mezcla de ácido-alcohol al 3.0% (95% de etanol y 3.0% de ácido clorhídrico) hasta que persista un color rosa débil
5) Lavar con agua
6) Aplicar azul de metileno de Loeffler durante 1 min como tinción de contraste
7) Lavar con agua desionizada y dejar secar

Tinción de Kinyoun con carbolfucsina

1) Fórmula: 4 g de fucsina básica; 8 g de fenol; 20 ml de alcohol al 95% y 100 ml de agua destilada
2) Teñir la extensión fijada durante 3 min (no se necesita el calor) y seguir los demás pasos de la tinción de Ziehl-Neelsen

de uso común, se elaboran a partir de antisueros obtenidos al inyectar animales con microorganismos completos o mezclas de complejos de antígenos. Los **anticuerpos policlonales** resultantes pueden reaccionar con múltiples antígenos que están sobre el microorganismo inyectado, y también pueden mostrar reacciones cruzadas con antígenos de otros gérmenes o tal vez con células humanas que estén en la muestra. El control de calidad es una medida importante para llevar al mínimo las tinciones inespecíficas de tipo inmunofluorescente. El problema recién mencionado se puede evitar con el empleo de **anticuerpos monoclonales**. La tinción inmunofluorescente es más útil para confirmar la presencia de microorganismos específicos como *Bordetella pertussis* o *Legionella pneumophila* en colonias aisladas en medios de cultivo. Es más difícil, y los resultados menos específicos, practicar la tinción IF directa en muestras obtenidas de pacientes.

Colorantes como el calcoflúor blanco, la metenamina argéntica y a veces el ácido peryódico de Schiff (PAS, *periodic acid Schiff*) y otros más se usan en muestras de tejido y de otro tipo en que están presentes hongos u otros parásitos. Los colorantes mencionados no son específicos de algún microorganismo particular, pero pueden definir su estructura para que se utilicen criterios morfológicos para la identificación. El calcoflúor blanco se une a la celulosa y la quitina en las paredes de los hongos, que mostrarán fluorescencia a la longitud de onda de la luz ultravioleta. Con él se demuestran contornos morfológicos que son característicos o diagnósticos de la especie (como serían las esférulas en las esporas en caso de infección por *Coccidioides immitis*). Los quistes de *Pneumocystis jiroveci* se identifican gracias a su morfología en muestras teñidas con plata. El PAS se utiliza para teñir cortes de tejido si se sospecha una micosis. Después del aislamiento primario de los hongos se recurre a colorantes como el azul de lactofenol (algodón) para diferenciar la proliferación de hongos e identificar los microorganismos con base en su morfología.

Las muestras en que se intenta identificar hongos se pueden estudiar sin teñir después de tratarlas con una solución de hidróxido de potasio al 10%, que disgrega los tejidos que rodean los micelios del hongo y se obtiene así una imagen mejor de las hifas. A veces es útil en muestras sin teñir el uso del microscopio por contraste de fase. El microscopio de campo oscuro se utiliza para detectar *Treponema pallidum* de material obtenido de lesiones sifilíticas primaria o secundaria u otras espiroquetas como Leptospira.

Sistemas de cultivo

En la bacteriología diagnóstica se necesita usar tipos diversos de medios para el cultivo corriente, en particular si los posibles microorganismos incluyen bacterias aeróbicas, anaeróbicas facultativas y anaeróbicas obligadas. En el cuadro 47-2 se incluyen las muestras y los medios de cultivo utilizados para diagnosticar las infecciones bacterianas más comunes. El medio corriente para las muestras es el agar sangre, que por lo común se elabora con 5% de sangre de carnero y en él proliferarán muchos aeróbicos y anaeróbicos facultativos. El agar chocolate, medio que contiene sangre calentada, con suplementos o sin ellos, es el segundo medio necesario; algunos microorganismos no proliferan en el agar sangre, incluidas *Neisseria* y *Haemophilus* patógenos, pero que sí se multiplican en el agar chocolate. Un medio selectivo para los bacilos gramnegativos entéricos (agar de MacConkey o agar eosina-azul de metileno [EMB, *eosin-methylene blue*]) es el tercer tipo de medio que se utiliza en el trabajo diario. Las muestras en que se harán cultivos en busca de anaerobios obligados deben ser "cultivadas" o inoculadas en dos tipos más de medios, como mínimo, como sería el agar fuertemente complementado, como el agar-brucela con hemina y vitamina K, y otro medio selectivo que contiene sustancias que inhiben la proliferación de bacilos gramnegativos entéricos, anaerobios facultativos o cocos anaeróbicos grampositivos.

Otros muchos medios especializados se utilizan en la bacteriología diagnóstica y su selección depende del diagnóstico clínico y del microorganismo en estudio. El personal de laboratorio escoge los medios específicos con base en la información que el médico aportó en la solicitud del cultivo. De ese modo, el medio fresco de Bordet-Gengou o el que contiene carbón vegetal se utilizan para cultivar *B. pertussis* en el diagnóstico de la tos ferina y se usan otros medios especiales para cultivar *Vibrio cholerae, Corynebacterium diphtheriae, Neisseria gonorrhoeae,* y especies de *Campylobacter*. Se utilizan a menudo medios sólidos y líquidos especiales para el cultivo de micobacterias, y contienen inhibidores de la proliferación de otras bacterias. Muchos microorganismos de este tipo proliferan lentamente y por ello es necesario incubar los cultivos y estudiarlos periódicamente, durante semanas (cap. 23).

Los cultivos en caldo, que son medios altamente enriquecidos, son importantes como formas de "respaldo" de los resultados de los tejidos para biopsia y líquidos corporales, como el líquido cefalorraquídeo. Con los caldos se pueden obtener resultados positivos si no proliferan los gérmenes en medios sólidos, ante el escaso número de bacterias que tiene el inóculo (véanse párrafos anteriores).

Muchas levaduras proliferarán en agar sangre. Los hongos en fase bifásica y de micelio proliferan mejor en los medios ela-

CUADRO 47-2 Infecciones bacterianas localizadas más comunes y nocardiosis

Enfermedad	Tipo de muestra	Agentes causales comunes	Datos microscópicos usuales	Medios de cultivo	Comentarios
Celulitis cutánea	Material de biopsia por sacabocado	Estreptococos hemolíticos β del grupo A, *S. aureus*	Ocasionalmente cocos grampositivos	Agar sangre	En el material de biopsia en el borde principal del eritema se puede recuperar el microorganismo
Impétigo	Toma con aplicador	Igual que en caso de la celulitis (párrafo anterior)	Igual que en caso de la celulitis (párrafo anterior) y la faringitis (párrafo siguiente)		Rara vez están indicados los cultivos
Úlceras cutáneas	Biopsia de muestra obtenida por sacabocado; material profundo; material obtenido por aspiración de tejidos o para biopsia	Flora mixta	Flora mixta	Agar sangre, agar de MacConkey o agar EMB; medio para anaerobios	Las úlceras de la piel por debajo de la cintura suelen contener aerobios y anaerobios similares a los de la flora gastrointestinal
Meningitis	LCR	*Neisseria meningitidis*	Diplococos intracelulares gramnegativos	Agar chocolate[a] y agar sangre para cultivos de LCR	La aglutinación de látex (la detección del antígeno bacteriano no es adecuada para diagnosticar la causa de la meningitis)
		Haemophilus influenzae	Cocobacilos gramnegativos pequeños	Agar chocolate[a]	La aglutinación con látex (detección de antígeno bacteriano) es inadecuada para diagnosticar la causa de la meningitis
		Streptococcus pneumoniae	Cocos grampositivos en parejas	Agar sangre	La aglutinación de látex (detección de antígeno bacteriano) es inadecuada para diagnosticar la causa de la meningitis; es más sensible el método inmunocromatográfico
		Estreptococo del grupo B	Cocos grampositivos en parejas y cadenas	Agar sangre	La aglutinación de látex (detección de antígeno bacteriano) es inadecuada para diagnosticar la causa de la meningitis
		Escherichia coli y otras Enterobacteriaceae	Bacilos gramnegativos	Agar sangre	Principalmente en neonatos; no se necesitan medios selectivos para el cultivo del LCR
		Listeria monocytogenes	Bacilos grampositivos	Agar sangre	Hemolítico β; pueden confundirse con los estreptococos del grupo B
Absceso cerebral	Pus	Infección mixta; anaerobios cocos y bacilos grampositivos y gramnegativos; aerobios cocos grampositivos	Cocos grampositivos o flora mixta	Agar sangre, agar chocolate;[a] medio para anaerobios	Es necesario obtener la muestra con alguna técnica quirúrgica y transportarla en un medio estrictamente anaeróbico
Absceso peribucal	Pus	Flora mixta de la boca y la faringe	Flora mixta	Agar sangre; agar chocolate,[a] agar MacConkey o agar EMB; medios para anaerobios	Por lo común infección bacteriana mixta y en raras ocasiones actinomicosis
Faringitis	Toma con aplicador	Estreptococos del grupo A	No se recomienda	Agar sangre o medios selectivos	Hemolítico β
		Corynebacterium diphtheriae	No se recomienda	Medios de Loeffler o de Pal y seguir con medios de cisteína-telurita o de Tinsdale	Bacilos granulosos con características "chinas" en frotis, de material de cultivo; se necesita evaluar la toxicidad

Tos ferina (pertussis)	Material obtenido con aplicador	*Bordetella pertussis*	No se recomienda	Agar de Regan-Lowe	La prueba de anticuerpos fluorescentes identifica los microorganismos del cultivo y a veces en extensiones directas; la PCR es más sensible que el cultivo
Epiglotitis	Material obtenido con aplicador	*Haemophilus influenzae*	Por lo común no es útil	Gelosa chocolate[a] (también se utiliza agar sangre)	*Haemophilus influenzae*, es parte de la flora normal de la nasofaringe
Neumonía	Esputo u otras muestras obtenidas en forma penetrante de vías respiratorias	*Streptococcus pneumoniae*	Muchos polimorfonucleares, cocos grampositivos en parejas o cadenas. Hinchazón de la cápsula con omnisuero (prueba hinchazón capsular)	Agar sangre; también agares de MacConkey, EMB o achocolatado	*Streptococcus pneumoniae* es parte de la flora normal de la nasofaringe. Los cultivos de sangre específicos son positivos en 10 a 20% de los casos
		Staphylococcus aureus	Cocos grampositivos en parejas, tétradas y cúmulos	Agar sangre y también agares de MacConkey, EMB o gelosa chocolate	Causa poco común de neumonía. Por lo común hay estreptococos hemolíticos β coagulasa positivos
		Enterobacteriaceae y otros bacilos gramnegativos	Bacilos gramnegativos	Agar sangre; agares de MacConkey, EMB	Causas de neumonía que obligan a hospitalización
		Anaerobios y aerobios mixtos	Flora mixta de vías respiratorias; a veces innumerables polimorfonucleares	Agares sangre, de MacConkey o EMB; agar para anaerobios	Las muestras deben obtenerse por broncoscopia y para ello se utilizará un escobillón protegido o aspiración transtraqueal; el esputo expectorado no es adecuado para la identificación de anaerobios
Empiema torácico	Pus	Igual que en el apartado de neumonía o de infecciones por flora mixta	Flora mixta	Agares sangre de MacConkey o EMB; medios para anaerobios	Por lo común neumonía; flora aeróbica y anaeróbica mixta proveniente de orofaringe
Abscesos hepáticos	Pus	*Escherichia coli; Bacteroides fragilis*; flora aeróbica o anaeróbica mixta	Bacilos gramnegativos y flora mixta	Agares sangre de MacConkey, EMB; medios para anaerobios	Por lo común se identifican aerobios y anaerobios gramnegativos entéricos; pensar en una infección por *Entamoeba histolytica*
Colecistitis	Bilis	Aerobios entéricos gramnegativos; también *Bacteroides fragilis*	Bacilos gramnegativos	Agares sangre de MacConkey, EMB; medios anaerobios	Por lo común bacilos gramnegativos provenientes del tubo digestivo
Abscesos abdominal o perirrectal	Pus	Flora gastrointestinal	Flora mixta	Agar sangre de MacConkey, o EMB; medios para anaerobios	Flora intestinal de aerobios y anaerobios; a menudo se identifican más de cinco especies
Fiebre intestinal, tifoidea	Sangre, heces, orina	*Salmonella typhi*	No se recomienda	Agares de MacConkey, Hektoen, o de sulfuro de bismuto; otros	Hay que cultivar múltiples muestras; la identificación de lactosa es negativa y se produce H_2S

(*continúa*)

CUADRO 47-2 Infecciones bacterianas localizadas más comunes y nocardiosis (*Continuación*)

Enfermedad	Tipo de muestra	Agentes causales comunes	Signos microscópicos usuales	Medios de cultivo	Comentarios
Enteritis, enterocolitis, diarreas bacterianas, "gastroenteritis"	Heces	Especies de salmonela diferentes de *Shigella typhi*	Con la tinción de Gram o con azul de metileno se pueden identificar polimorfonucleares	Agares de MacConkey, Hektoen, o de sulfuro de bismuto; otros	Colonias que no fermentan la lactosa en medios inclinados con TSI:[a] las salmonelas no tifoideas producen ácido y gas en tubo invertido de Durham para fermentación, medio inclinado alcalino y H_2S
		Especies de *Shigella*	Con la tinción de Gram o azul de metileno se pueden identificar polimorfonucleares	Agares de MacConkey, Hektoen y sulfuro de bismuto; otros	Colonias que no fermentan la lactosa en medios inclinados con TSI;[a] las shigelas producen ácido y gas en medio inclinado alcalino y ácido en el tubo invertido de Durham para fermentación pero sin gas
		Campylobacter jejuni	Bacilos gramnegativos "en alas de gaviota" y a menudo polimorfonucleares	Campy BAP o medio similar	Incubar a 42°C; las colonias son oxidasapositivas; en la extensión se observan bacilos en forma de "alas de gaviota"
		Vibrio cholerae	No se recomienda	Sales biliares con citrato y tiosulfato (TCBS, *tiosulfate citrate, bile salts*); agar sacarosa; otros. Caldo de taurocolato-peptona para enriquecimiento	Colonias amarillas con las TCBS. *Vibrio cholerae* es oxidasa positivo
		Otros vibriones	No se recomienda	Igual que en el caso de *Vibrio cholerae*	Diferenciar de *Vibrio cholerae* por métodos bioquímicos y cultivos
		Yersinia enterocolitica	No se recomienda	MacConkey, CIN	Es útil el enriquecimiento a 4°C; incubar los cultivos a 25°C
Colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico	Heces	*Escherichia coli* O157:H7 y otros tipos serológicos	No se recomienda	Medios de MacConkey con sorbitol	Buscar colonias sorbitol negativas; estimar el tipo con antisueros para el antígeno O 157 y el antígeno flagelar 7; las pruebas preferidas son EIA para identificar las toxinas similares a shiga
Infección de vías urinarias	Orina (conviene la muestra de mitad del chorro y toma limpia o la que se obtiene por sondeo vesical o aspiración suprapúbica)	*Escherichia coli*; Enterobacteriaceae y otros bacilos gramnegativos	La presencia de bacilos gramnegativos en la muestra de orina no centrifugada y teñida denota que existen más de 10^5 microorganismos/ml	Agar sangre; agar de MacConkey o EMB	Las colonias grises que son hemolíticas β y que muestran positividad de indol inmediata, por lo común corresponden a *Escherichia coli*; otras necesitan más estudios bioquímicos
Uretritis/cervicitis	Material obtenido con aplicador	*Neisseria gonorrhoeae*	Diplococos gramnegativos y polimorfonucleares. Estudio específico para la secreción uretral en varones y menos fiable en mujeres	Medio modificado de Thayer-Martin y otro similar selectivo que contenga antibiótico	La positividad de la extensión teñida confirma el diagnóstico en varones; en mujeres se necesita cultivos o estudios de amplificación de ácido nucleico. Los gonococos son oxidasa positivos
		Chlamydia trachomatis	Presencia de polimorfonucleares sin diplococos gramnegativos acompañantes	Cultivo en medio de McCoy y células tratadas con cicloheximida	Inclusiones semilunares en células epiteliales por tinción o inmunofluorescencia. Pueden ser útiles EIA directos o técnicas con anticuerpos fluorescentes; son más sensibles las pruebas de amplificación de ácido nucleico

Úlceras en genitales	Material obtenido por aplicador	*Haemophilus ducreyi* (chancroide)	Flora mixta	Agar chocolate con IsoVitaleX y vancomicina	Entre las entidades por incluir en el diagnóstico diferencial de úlceras en genitales está la infección por herpes simple
		Treponema pallidum (sífilis)	El estudio en campo oscuro o de anticuerpos fluorescentes señala la presencia de espiroquetas	Ninguna	
	Pus aspirado de ganglios linfáticos supurados	*Chlamydia trachomatis* (linfogranuloma venéreo)	Poliformonucleares sin diplococos gramnegativos acompañantes	Pus en cultivo de células (igual que en caso de la uretritis)	
Enfermedad inflamatoria pélvica	Material cervical obtenido por aplicador	*Neisseria gonorrhoeae*	Polimorfonucleares que se acompañan de diplococos gramnegativos; puede haber flora mixta	Medio selectivo de Thayer-Martin modificado u otro similar que contenga antibiótico; se prefiere la prueba de amplificación de ácido nucleico	Los microorganismos patógenos pueden ser gonococos, anaerobios y otros. Los anaerobios casi siempre están en el interior del cuello uterino; por tal razón, la muestra endocervical no es adecuada para cultivo de muestra en busca de anaerobios
		Chlamydia trachomatis	Véase párrafo anterior (se prefiere la prueba de amplificación de ácido nucleico)	Cultivo celular (igual que en caso de uretritis)	
	Aspiración del fondo de saco de Douglas o por laparoscopio	*Neisseria gonorrhoeae*	Diplococos gramnegativos en el interior o exterior de los polimorfonucleares	Medio de Thayer-Martin modificado	
		Chlamydia trachomatis	Véase párrafo anterior	Cultivo celular (igual que en el caso de uretritis)	
		Flora mixta	Flora mixta	Agares sangre, de MacConkey o EMB; medio para anaerobios	Por lo común hay bacterias anaeróbicas y aeróbicas mixtas
Artritis	Líquido sinovial aspirado, sangre	*Staphylococcus aureus*	Cocos grampositivos en pares, tétradas y cúmulos	Agar sangre; agar chocolate[a]	Afecta niños y adultos; germen coagulasa positivo; por lo común hemolítico β
		Neisseria gonorrhoeae	Diplococos gramnegativos en el interior o en el exterior de polimorfonucleares	Medio de Thayer-Martin modificado	
		Otros	La morfología depende de los microorganismos	Agares sangre y achocolatado;[a] medios para anaerobios	Incluye estreptococos, bacilos gramnegativos y anaerobios
Osteomielitis	Pus o muestra de hueso obtenida por aspiración o cirugía	Múltiple; a menudo *Staphylococcus aureus*	La morfología depende de los microorganismos	Agares sangre, de MacConkey, EBM, medio para anaerobios	Por lo común microorganismos aeróbicos; el más común es *Staphylococcus aureus*; frecuentemente se identifican bacilos gramnegativos; los anaerobios son menos comunes

TSI, agar-hierro-triple azúcar; CIN, medio de cefsulodina-irgasan-novobiocina; EIA, enzimoinmunoanálisis.

[a]El suplemento químico como IsoVitaleX intensifica la proliferación de especies de *Haemophilus* y *Neisseria*.

CUADRO 47-3 Micosis comunes y nocardiosis: agentes, muestras y métodos diagnósticos

	Muestra	Pruebas serológicas y de otro tipo	Comentarios
Micosis invasoras (profundas)			
Aspergilosis: *Aspergillus fumigatus* y otras especies de *Aspergillus*			
Pulmonar	Secreciones de vías respiratorias	Se cuenta con métodos para galactomananos séricos aunque su sensibilidad y especificidad son variables	Cada vez son menos útiles los estudios serológicos
Diseminada	Muestra de biopsia, sangre	Igual que la anterior	Es difícil que prolifere *Aspergillus* de la sangre de individuos con la infección diseminada
Blastomicosis: *Blastomyces dermatitidis*			
Pulmonar	Secreciones de vías respiratorias	CF, EIA	El método CF por lo común arroja resultados negativos y no es muy útil. Son más sensibles EIA aunque menos específicas. El mejor método para el diagnóstico es el cultivo y rara vez se practican estudios serológicos. El antígeno en orina muestra reacción cruzada con otros hongos
Úlceras de boca y piel	Muestra de biopsia u obtenida con aplicador	CF, EIA, antígeno de orina	
Huesos	Biopsia de huesos	CF, EIA, antígeno de orina	
Coccidiodomicosis: *Coccidioides immitis*			
Pulmonar	Secreciones de vías respiratorias	CF, inmunodifusión, precipitación, aglutinación de látex, EIA, sondas de DNA (confirmación de datos del cultivo)	*Coccidioides immitis* proliferará en cultivos corrientes de agar sangre; los cultivos positivos imponen peligros graves para los técnicos de laboratorio. El cultivo se confirma con una sonda de DNA. El estudio serológico ser mas útil que el cultivo.
Diseminada	Muestra de biopsia del sitio de infección (p. ej., piel o huesos)	Igual que la anterior, salvo que la intradermorreacción con coccidioidina puede ser negativa	
Histoplasmosis: *Histoplasma capsulatum*			
Pulmonar	Secreciones de vías respiratorias	CF, inmunodifusión, métodos para detectar anticuerpos, pruebas de antígeno e histoplasma en orina (más sensibles), suero y líquido de lavado broncoalveolar	El estudio serológico no es útil pero es menos sensible en individuos inmunodeprimidos. La confirmación se obtiene con el cultivo con sonda de DNA
Diseminada	Médula ósea, sangre, muestra de biopsia obtenida del sitio de infección	Igual que la anterior	
Nocardiosis: complejo de *Nocardia asteroides*			
Pulmonar	Secreciones de vías respiratorias	Tinción modificada para acidorresistentes	Las nocardias son bacterias con comportamiento clínico similar al de los hongos. Los bacilos grampositivos filamentosos, ramificados acidorresistentes débiles son nocardias
Subcutánea	Material aspirado o biopsia de absceso	Proliferará en los medios corrientes de laboratorio	
Cerebral	Material de absceso cerebral		
Paracoccidioidomicosis (blastomicosis sudamericana): *Paracoccidioides braziliensis*			
	Muestras de biopsias de la lesión	Inmunodifusión, CF, la intradermorreacción con paracoccidioidina no es útil para el diagnóstico	La prueba de inmunodifusión tiene sensibilidad y especificidad de 95%; CF e intradermorreacción muestran reacciones cruzadas con histoplasmina. La positividad de la intradermorreacción tiene utilidad en el pronóstico

Esporotricosis: *Sporothrix schenckii*			
Piel y nódulos subcutáneos	Muestra de biopsia	Aglutinación	El cultivo es más útil que el estudio serológico
Diseminada	Muestra de biopsia obtenida del sitio infectado	Igual que la anterior	
Cigomicosis: especies de *Rhizopus*, y de *Mucor*, y otras más			
Rinocerebral	Tejido nasoorbitario	Ninguna	Se observan en cortes microscópicos hifas no tabicadas
Cutánea; pulmonar y diseminada	Secreciones de vías respiratorias, muestras de biopsia	Ninguna	El cultivo es útil
Infecciones por levaduras			
Candidosis: *Candida albicans* y levaduras similares[a]			
Membranas mucosas	Secreciones	La preparación húmeda con hidróxido de potasio es útil para el estudio microscópico de la infección localizada	Por lo común el cultivo es fácil a partir del material clínico
Piel	Muestra obtenida con aplicador		
Sistémica	Sangre, muestra de biopsia, orina	Inmunodifusión	Igual que la anterior. El estudio serológico rara vez es útil
Criptococosis: *Cyptococcus neoformans*			
Pulmonar	Secreciones de vías respiratorias	Rara vez se identifica el antígeno de criptococo	Rara vez se identifican anticuerpos contra *Cyptococcus neoformans*
Meningitis	LCR	La detección del antígeno de criptococo es la técnica más útil	A veces se necesita repetir los estudios de LCR para diagnosticar meningitis
Diseminada	Médula ósea, hueso, sangre, otros	Antígeno de criptococo en suero	
Infecciones cutáneas primarias			
Dermatofitosis: especies de *Microsporum*, *Epidermophyton*, *Trichophyton*			
	Cabello, piel y uñas de sitios infectados	Ninguno	Posible el cultivo en agares para dermatofitos

[a]*Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, y otras especies de *Candida*.

CF, fijación de complemento; EIA, enzimoinmunoanálisis.

borados específicamente para hongos. El agar con infusión de cerebro-corazón con antibióticos y sin ellos y el agar para inhibir mohos han sustituido en gran medida al empleo tradicional al agar-dextrosa de Sabouraud para la proliferación de hongos. Los medios elaborados con materiales vegetales y de plantas que constituyen el hábitat natural de muchos hongos permiten también la multiplicación de muchos hongos patógenos. Los cultivos de hongos por lo común se expenden en juegos pares y un juego es incubado a 25 a 30°C y el otro a 35 a 37°C. En el cuadro 47-3 se señalan las muestras y otras técnicas para utilizar en el diagnóstico de las micosis.

Detección de antígeno

En el diagnóstico de infecciones específicas se pueden utilizar sistemas inmunológicos diseñados para detectar antígenos de microorganismos. Los métodos de inmunofluorescencia directos e indirectos (IF), constituyen formas de detección de antígeno y se señalan en secciones separadas de este capítulo, que tratan del diagnóstico de infecciones por bacterias, clamidias y virus, y en los capítulos en que se trata a los microorganismos correspondientes.

Los **enzimoinmunoanálisis** (EIA, *enzyme-linked immunosorbent assays*), incluido en enzimoinmunoanálisis de adsorción (**ELISA**) y las pruebas de aglutinación, se utilizan para detectar antígenos de agentes infecciosos presentes en muestras clínicas. Se hará una revisión somera de los principios de tales pruebas. Existen innumerables variaciones de EIA para detectar antígenos. Un formato de uso común es fijar un anticuerpo de captura que sea específico para el antígeno en cuestión, a las paredes del equipo de material plástico para microdilución. La muestra que contiene el antígeno se incuba en los cuencos y después éstos se lavan. Para detectar el antígeno se utiliza un segundo anticuerpo para él marcado con la enzima. La adición del sustrato correspondiente a la enzima permite detectar el antígeno fijado, gracias a una reacción colorimétrica. Una modificación significativa de los EIA es la creación de formatos de membrana inmunocromatográficos para detectar antígenos. En dicho formato se utiliza una membrana de microcelulosa para absorber el antígeno presente en la muestra. En la membrana surge directamente una reacción colorimétrica, con la adición seriada de conjugado, seguido por el sustrato. En algunos formatos el antígeno es captado por el anticuerpo fijado, dirigido contra dicho antígeno. Los métodos en cuestión poseen la ventaja de su rapidez e incluir un control positivo autointegrado. Ejemplo de este tipo de evaluación es el método del antígeno de *Streptococcus pneumoniae* llamado Binax NOW. En algunos EIA no se necesita el anticuerpo inicial porque el antígeno se fijará directamente al material plástico de los cuencos. EIA se utilizan para detectar antígenos de virus, bacterias, clamidias, protozoos y hongos en diversos tipos de muestras como heces, líquido cefalorraquídeo, orina y material obtenido de vías respiratorias. Se muestran ejemplos de ellos en los capítulos que tratan de agentes etiológicos específicos.

En los métodos de aglutinación de látex se fija en cuentas de este material el anticuerpo que es específico de un antígeno (policlonal o monoclonal). Al agregar la muestra química a una suspensión de las cuentas de látex, los anticuerpos se fijan a los antígenos en el microorganismo y así se forma una estructura reticular y se produce la aglutinación de las cuentas. La coaglutinación es similar a la aglutinación de látex, salvo que se utilizan estafilococos con abundante proteína A (cepas Cowan I), en vez de las partículas de látex; la coaglutinación es menos útil para la detección de antígeno, en comparación con la aglutinación de látex, pero es un método útil si se aplica a la identificación de bacterias en cultivos, como *S. pneumoniae, Neisseria meningitidis, N. gonorrhoeae* y estreptococos hemolíticos β.

Con los métodos de aglutinación de látex se busca fundamentalmente detectar antígenos de carbohidratos, de microorganismos encapsulados. La detección antigénica se utiliza más a menudo en el diagnóstico de la faringitis por estreptococo del grupo A. La detección del antígeno de criptococo es útil para diagnosticar la meningitis por dicho microorganismo en sujetos con SIDA u otras enfermedades inmunodepresoras.

La sensibilidad de los métodos de aglutinación del látex en el diagnóstico de meningitis bacteriana tal vez no sea mejor que la de la tinción de Gram, que es en promedio de 100 000 bacterias por mililitro. Por esa causa no se recomienda usar el método de aglutinación de látex para estudios en muestras directas.

Métodos de inmunotransferencia

Son técnicas que por lo común se realizan para detectar anticuerpos contra antígenos específicos de un microorganismo particular. Se basa en la separación electroforética de grandes proteínas de los microorganismos en cuestión, en un gel de agarosa bidimensional. Por medios mecánicos o químicos se modifican los microorganismos, y el antígeno solubilizado resultante se coloca en un gel de poliacrilamida. Se aplica una corriente eléctrica y las proteínas grandes son separadas con arreglo a su tamaño (las proteínas de menor tamaño viajan con mayor rapidez). Las bandas proteínicas son transferidas a tiras de papel de microcelulosa y después de incubar estas últimas con la muestra del paciente que contiene el anticuerpo (por lo común suero), él se liga a las proteínas en la tira y es detectado enzimáticamente en una forma semejante a los métodos EIA ya descritos. Los métodos de inmunotransferencia se utilizan como técnicas específicas para detectar anticuerpos en la infección por VIH y en la enfermedad de Lyme.

Diagnóstico molecular

El principio que sustentó a los primeros métodos moleculares fue la hibridación de una **sonda de ácido nucleico** caracterizada, destinada a una secuencia específica de ácidos nucleicos en una muestra analítica, seguida de detección del par de híbridos. Por ejemplo, se utilizó la sonda monocatenaria de DNA (o de RNA) para detectar RNA complementario o DNA desnaturalizado en una muestra de estudio. En forma típica se marca la sonda de ácido nucleico con enzimas, sustratos antigénicos, moléculas quimioluminescentes o radioisótopos, para facilitar la detección del producto de hibridación. Al seleccionar con cuidado la sonda o sintetizar un **oligonucleótido** específico y realizar la hibridación en una forma muy estricta, la detección del ácido nucleico en la muestra de estudio puede ser extraordinariamente específica. Las evaluaciones o ensayos en cuestión se utilizan preferentemente para la confirmación rápida de la identidad de un patógeno una vez que se detectó su proliferación, por ejemplo la identificación de *Mycobacterium tuberculosis* en cultivo mediante la sonda de DNA Gen-Probe Inc. (San Diego, CA). El método Gen-Probe es un ejemplo del formato de hibridación en que están en solución la sonda y la molécula o elemento "destinatario". Gran parte de las aplicaciones que se usan en laboratorios de microbiología clínica utilizan formatos de hibridación en solución. La hibridación *in situ* comprende el empleo de sondas de DNA o de RNA marcadas, para detectar ácidos nucleicos complementarios en tejidos incluidos en parafina y fijados por formol, tejidos congelados o preparados citológicos realizados

en laminillas. Desde el punto de vista técnico puede ser difícil lo anterior y por lo común se realizan en laboratorios de histología y no en los de microbiología clínica. Sin embargo, la técnica en cuestión ha ampliado los conocimientos de los aspectos biológicos de innumerables enfermedades infecciosas, en particular las hepatitis y las causadas por virus oncógenos, y es útil aun en el diagnóstico de los trastornos infecciosos. En una técnica nueva que en cierta medida es una modificación de la hibridación *in situ*, se utilizan sondas de ácidos nucleicos y péptidos. Las sondas de este tipo son fragmentos sintetizados de DNA en el cual el esqueleto de fosfato-azúcar del DNA (que tiene normalmente carga negativa), es sustituido por una poliamida de unidades repetitivas (carga neutra). Se pueden unir al esqueleto neutro bases de nucleótidos individuales, con lo cual la hibridación es más rápida y específica con ácidos nucleicos complementarios. Las sondas son sintéticas y por ello no son degradadas por nucleasas ni otras enzimas. Una compañía comercial (AdvanDx, Woburn MA) tiene varias técnicas aprobadas por la FDA en Estados Unidos para confirmar la identificación de *Staphylococcus aureus*, enterococos, algunas especies de *Candida* y bacilos gramnegativos en recipientes con positividad en cultivos de sangre. La hibridación de sondas se detecta por fluorescencia y recibe el nombre de Hibridación In Situ con Fluorescencia de Ácidos Nucleicos de Péptidos (PNA-FISH, *peptide nucleic acid-fluorescence* in situ *hybridization*).

A. Identificación de bacterias por medio del rRNA 16S

El rRNA 16S de cada especie de bacteria posee zonas estables o conservadas de la secuencia. En cada microorganismo existen innumerables copias. Se agregan sondas marcadas con especificidad para el rRNA 16S de la especie, y se mide la cantidad del producto marcado en el híbrido bicatenario. La técnica en cuestión se utiliza ampliamente para la identificación rápida de muchos microorganismos. Entre los ejemplos están las especies más comunes e importantes de *Mycobacterium, C. immitis, Histoplasma capsulatum* y otras.

Se conservan en diversas especies de microorganismos partes de rRNA 16S. La amplificación del rRNA 16S por medio de cebadores (iniciadores o primeros) de estas regiones conservadas permite el aislamiento y la definición de secuencias de las regiones variables de las moléculas; dichas secuencias variables son marcadores con especificidad de género o de especie, que permiten la identificación de los microorganismos. Se han identificado con la técnica mencionada los patógenos en que era difícil o imposible su cultivo en el laboratorio. Un ejemplo es *Tropheryma whipplei,* el patógeno que causa la enfermedad de Whipple.

Los métodos de diagnóstico molecular que utilizan amplificación del ácido nucleico se utilizan ampliamente y están en fase de evolución rápida. Los sistemas de amplificación pertenecen a algunas categorías básicas, como será señalado.

B. Sistemas de amplificación del DNA o RNA preescogidos

En los métodos en cuestión se amplifica muchas veces DNA o RNA preescogidos. La **reacción en cadena de la polimerasa** (PCR, *polymerase chain reaction*) se usa para amplificar cantidades extraordinariamente pequeñas de DNA específico que está presente en la muestra clínica y así es posible detectar las cantidades que inicialmente eran pequeñísimas de ácido desoxirribonucleico. La PCR utiliza una DNA polimerasa termoestable para producir una amplificación doble de DNA "preseleccionado" en cada sitio de temperatura. La PCR corriente utiliza tres reacciones seriadas: desnaturalización, hibridación y extensión del cebador, en la forma en que luego será señalado. El DNA extraído de la muestra clínica, junto con los oligonucleótidos específicos de los iniciadores, nucleótidos, polimerasa de DNA termostable y amortiguador se calientan a 90-95°C para separar o desnaturalizar las dos cadenas de DNA seleccionado. Se disminuye la temperatura de la reacción, por lo común a 45 a 60°C, con base en los cebadores para permitir la hibridación de éstos con el DNA preseleccionado. Hecho lo anterior, se extiende cada cebador por medio de la DNA polimerasa termoestable al agregar nucleótidos complementarios del DNA preescogido, y de esta forma se genera la amplificación doble. El ciclo se repite 30 a 40 veces hasta obtener la amplificación del segmento de DNA preseleccionado, incluso 10^5 a 10^6 veces. El segmento amplificado se puede identificar en el gel por electroforesis o detectar en los análisis de inmunotransferencia de Southern por uso de sondas de DNA marcadas que son específicas para el segmento, o por una variedad de técnicas comerciales de patente.

La PCR también puede realizarse en segmentos de RNA, método que ha sido llamado **PCR de transcriptasa inversa**. La enzima recién mencionada se utiliza para transcribir el RNA en el DNA complementario para amplificación.

En el comercio se cuenta con métodos de PCR para identificar patógenos bacterianos y virales de muy diversa especie como *Chlamydia trachomatis, N. gonorrhoeae, M. tuberculosis* , virus citomegálico, enterovirus y otros más. Se cuenta con un método para evaluar el número (carga) de virus VIH-1. Se conocen otras PCR creadas en laboratorios individuales para diagnosticar infecciones. Son los métodos más indicados para el diagnóstico de innumerables infecciones, en particular cuando no son útiles las técnicas corrientes de cultivo y detección de antígeno; entre los ejemplos estarían la búsqueda del virus de herpes simple en líquido cefalorraquídeo para el diagnóstico de encefalitis herpética, y la evaluación del líquido de lavado nasofaríngeo para identificar una infección por *B. pertussis* (tos ferina).

Un aspecto importante en el caso de laboratorios que practican métodos de PCR es evitar la contaminación de los reactivos o muestras con DNA del entorno, que pudiera obstaculizar la diferenciación entre los resultados positivos verdaderos y los positivos falsos, debido a la contaminación.

C. Sistemas de amplificación de sondas

La **reacción en cadena de la ligasa** (LCR, *ligase chain reaction*) es un sistema de amplificación distinto del de la reacción en cadena de la polimerasa. La reacción de ligasa utiliza DNA polimerasa y DNA ligasa termoestable. La técnica utiliza cuatro sondas de oligonucleótidos que tienen cada una 20 a 24 bases. Cada par de oligonucleótidos tiene como función ligarse a un segmento de DNA desnaturalizado, con una distancia de unas cuantas bases. Los oligonucleótidos se mezclan con el DNA objetivo extraído de la muestra y otros reactivos y después se calienta hasta desnaturalizarlo. Se inicia después una reacción de enfriamiento para que se fijen las sondas del oligonucleótido con DNA preseleccionado. La corta distancia entre las dos sondas se llena con la DNA polimerasa y se une con la DNA ligasa y de ello se generan moléculas de DNA bicatenarias de 40 a 50 bp de longitud. El ciclo se repite 30 a 40 veces y así se genera un gran número de moléculas de ácido desoxirribonucleico. El sistema comercial mencionado incluye la detección automatizada

de DNA amplificado. Se puede utilizar para la detección de *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*. Se le obtiene únicamente fuera de Estados Unidos.

D. Técnicas de amplificación de señales

Los métodos en cuestión refuerzan la señal al amplificar el elemento marcador (p. ej., fluorocromos, enzimas) que se agrega al ácido nucleico preseleccionado. El sistema de **DNA ramificado** (bDNA, *branched DNA*) incluye una serie de sondas primarias y otra secundaria ramificada, marcada con la enzima. Las sondas de oligonucleótidos múltiples que son específicas para el RNA preseleccionado (o DNA) se fijan a una superficie sólida como la cubeta de microdilución. Constituyen las sondas de captura. Se agrega la muestra preparada y las moléculas de RNA se unen a las sondas de captura en la cubeta de microdilución. Las sondas de ese tipo adicionales se ligan a la sonda preescogida, pero no a la cubeta. Las sondas de amplificación de bDNA marcadas con enzima se agregan y se unen a las sondas preseleccionadas. Se agrega un sustrato quimioluminiscente y la luz emitida se mide para cuantificar la cantidad de RNA preseleccionado presente. Ejemplos de este tipo de técnica incluyen la medición cuantitativa de los virus VIH-1 y de las hepatitis C y D.

E. Métodos de amplificación no basados en PCR

La **amplificación mediada por transcripción (TMA,** ***transcription mediated amplification*****)** y la **amplificación basada en secuencia de ácidos nucleicos (NASBA,** ***nucleic acid sequence-based amplification*****)** amplifican grandes cantidades de RNA en métodos isotérmicos que de manera coordinada utilizan las enzimas transcriptasa inversa, RNasa H, y RNA polimerasa. Se permite que un cebador oligonucleótido que contiene el promotor de RNA polimerasa se fije al RNA preescogido. La transcriptasa inversa elabora una copia de cDNA monocatenario del ácido desoxirribonucleico. La RNasa H destruye el RNA del híbrido RNA-cDNA y un segundo cebador se empalma al segmento de cDNA. La actividad de DNA polimerasa que depende de DNA (propia de la transcriptasa inversa) extiende el DNA del primer cebador y así se genera una copia de DNA bicatenario con RNA polimerasa intacta; esta última después genera muchas copias del RNA monocatenario. Ejemplo del empleo de tales métodos es la detección de *C. trachomatis, N. gonorrhoeae,* y *M. tuberculosis* y la cuantificación del número de partículas de VIH-1.

Los **métodos de desplazamiento de cadena** (SDA, *strand displacement assays*), son técnicas de amplificación isotérmica que utilizan la endonucleasa restrictiva y la polimerasa de ácido desoxirribonucleico.

F. PCR de tiempo real

Los progresos tecnológicos que han permitido contar con la "amplificación de tiempo real" cuentan con plataformas de amplificación directa de ácido nucleico, con mejoría de la sensibilidad de las técnicas de amplificación, y han disminuido impresionantemente la posibilidad de contaminación. Los instrumentos de tiempo real han sustituido al bloque sólido utilizado en los termocicladores corrientes con ventiladores que permiten el ciclado más rápido de la reacción en cadena de la polimerasa. Las mejoras impresionantes en los aspectos químicos de las reacciones de amplificación de ácidos nucleicos han permitido contar con mezclas de reacción homogénea en las cuales aparecen compuestos fluorógenos en el mismo tubo de reacción en que ocurre la amplificación. Se utilizan diversas moléculas fluorógenas; incluyen colorantes inespecíficos como el verde de SYBR, que se fija al surco pequeño de DNA bicatenario y métodos de detección específicos con amplicón que usan sondas de oligonucleótidos marcadas con sustancias fluorescentes, que pertenecen a tres categorías: sondas TaqMan o de hidrólisis; sondas de transferencia de energía de fluorescencia (FRET, *fluorescence energy transfer*), y señalamientos moleculares. Rebasa los límites de este capítulo hacer un comentario completo de los métodos en cuestión y convendría que el lector interesado consultara la obra coordinada por Persing et al., incluida en la bibliografía. Todos los métodos permiten medir la fluorescencia en cada ciclo de amplificación, y ello constituye la evaluación de "tiempo real" de los resultados. No es necesario abrir el tubo de la reacción para analizar los productos de PCR en un gel, y por ello existe menor peligro de transportar amplicón residual, que influya en la reacción siguiente.

IMPORTANCIA DE LA FLORA BACTERIANA Y MICÓTICA NORMAL

Se considera que microorganismos como *M. tuberculosis, Salmonella typhi* y *Brucella* son patógenos siempre que se les detecte en pacientes. Sin embargo, muchas infecciones son causadas por gérmenes que son miembros permanentes o transitorios de la flora normal. Por ejemplo, *Escherichia coli* es parte de la flora gastrointestinal normal y también es el patógeno más frecuente que causa las infecciones de vías urinarias. En forma semejante, la mayor parte de las infecciones bacterianas mixtas con anaerobios son causadas por microorganismos que pertenecen a la flora normal.

El número relativo de microorganismos específicos detectados en un cultivo adquiere importancia cuando miembros de la flora normal son los que originan la infección. Cuando se identifican innumerables bacilos gramnegativos de especies como *Klebsiella pneumoniae* mezclados con unas cuantas bacterias normales de la nasofaringe en el cultivo de esputo, existe una fuerte sospecha de que los bacilos gramnegativos causen la neumonía porque normalmente no existe gran número de ellos en el esputo ni en la flora nasofaríngea; es necesario identificar los gérmenes e informar al clínico. A diferencia de ellos, los abscesos abdominales suelen poseer una distribución normal de microorganismos aeróbicos, anaeróbicos facultativos y anaeróbicos obligados, que representan la flora del tubo digestivo. En esos casos no se justifica identificar a todas las especies presentes, y en vez de ello será mejor notificar que existe "flora gastrointestinal normal".

Las levaduras en cantidades pequeñas suelen ser parte de la flora microbiana normal. Sin embargo, otros hongos no son parte normal de ese conglomerado y por ello habrá que identificarlos y señalarlos al clínico. Los virus por lo común no son parte de la flora normal tal como se detectan en los laboratorios de microbiología diagnóstica. Sin embargo, algunos latentes como el del herpes simple o virus vivos de vacunas como el de poliomielitis, aparecen a veces en los cultivos para detectar tales partículas. En algunas zonas del mundo las muestras de heces suelen aportar datos de parasitosis; en tales casos el número relativo de parásitos se correlaciona con el cuadro clínico, que es importante.

Los miembros de la flora normal que aparecen más a menudo en muestras del paciente y que pueden ser calificados de "flora normal" se exponen en el capítulo 10.

MEDIOS AUXILIARES DE LABORATORIO EN LA SELECCIÓN DEL TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

El antimicrobiano que se utiliza para iniciar el tratamiento de una infección se escoge con base en la impresión clínica después de que el médico está convencido de que existe una infección y ha planteado en forma tentativa un diagnóstico etiológico sobre bases clínicas. Con base en esta "suposición orientada" puede escoger un fármaco probable, conveniente (cap. 28). Antes de la administración del medicamento, se obtienen muestras para aislar en el laboratorio el agente causal. Los resultados de los estudios en cuestión a veces obligan a cambiar el fármaco. La identificación de algunos microorganismos que uniformemente son susceptibles a un fármaco elimina la necesidad de más estudios y permite seleccionar fármacos con eficacia óptima sólo con base en la experiencia. En otras circunstancias pueden ser útiles estudios para evaluar la susceptibilidad de microorganismos aislados a fármacos (cap. 28).

El método muy practicado de **susceptibilidad de difusión en disco** debe utilizarse en forma juiciosa y ser interpretado con gran cautela. En términos generales, en él está representado sólo un miembro de cada clase importante de fármacos. En el caso de los estafilococos, se utilizan penicilina G, oxacilina, cefazolina, eritromicina, gentamicina y vancomicina. En el caso de bacilos gramnegativos, se incluyen ampicilina, cefazolina y las cefalosporinas de segunda y tercera generaciones, piperacilina y otras "penicilinas contra seudomonas", carbapenémicos, trimetoprim-sulfametoxazol, fluoroquinolonas y los aminoglucósidos (amikacina, tobramicina, gentamicina). En el caso de infecciones de vías urinarias por bacilos gramnegativos se pueden agregar nitrofurantoína, quinolonas y trimetoprim. La selección de fármacos por incluir en un conjunto de pruebas sistemáticas de susceptibilidad (antibioticograma) se basa en los perfiles de susceptibilidad de gérmenes en laboratorio, el tipo (de contagio comunitario o nosocomial) y el origen de la infección, y el análisis de costo y eficacia correspondiente a la población de pacientes. La magnitud de las zonas de inhibición de la proliferación varía con las características moleculares de cada fármaco. Sobre tal base, es imposible comparar el tamaño de dicha zona en un medicamento, con el que corresponde a otro medicamento que actúa en el mismo microorganismo. Sin embargo, en el caso de cualquier medicamento se puede comparar el tamaño de la zona con otra normativa, a condición de que sean regulados con gran detalle los medios de cultivo, el tamaño del inóculo y otros factores; de esta forma será posible definir para cada fármaco un diámetro mínimo de zona de inhibición que denote la "susceptibilidad" de un germen mediante difusión de disco.

El método de disco mide la capacidad de los fármacos para inhibir la proliferación de bacterias. Los resultados muestran una correlación razonable con la respuesta terapéutica a las enfermedades en el caso en que las defensas corporales eliminen frecuentemente los microorganismos infecciosos.

En unos cuantos tipos de infecciones en seres humanos, los resultados de las técnicas de disco brindan poco auxilio (y pueden ser desorientadores), porque se necesita para la curación el efecto de un fármaco bactericida. En tal situación, ejemplos sobresalientes serían la endocarditis infecciosa, la osteomielitis aguda, e infecciones graves en un hospedador en quien son inadecuadas las defensas antibacterianas, como el caso de personas con neoplasias que han sido tratadas con radiación y antineoplásicos, o sujetos que han recibido altas dosis de corticoesteroides y muestran inmunodepresión.

En vez de la técnica del disco cabe utilizar un método de **concentración inhibidora mínima** semicuantitativo (MIC, *minimum inhibitory concentration*). Mide con mayor exactitud la concentración de un antibiótico necesaria para inhibir la proliferación de un inóculo estandarizado, en circunstancias definidas. Se utiliza un método de microdilución semiautomatizado en la cual se disuelven cantidades definidas del fármaco en un volumen pequeño y medido de caldo, y es inoculado con un número estandarizado de microorganismos. Se considera como punto final o concentración inhibidora mínima la última vasija de caldo (la concentración mínima del fármaco) que permanece clara, es decir, sin proliferación microbiana. Con este método se obtiene una estimación mejor de la cantidad probable de fármaco necesaria para inhibir la proliferación *in vivo* y de este modo es útil para ajustar el régimen posológico necesario para el paciente.

Los laboratorios de microbiología clínica realizan los métodos de difusión de disco y otros basados en la evaluación del MIC e interpretan sus resultados con base en directrices establecidas por el Instituto de Laboratorios Clínicos y Estándares (CLSI, *Clinical Laboratory and Standards Institute*) situado en Wayne, Pennsylvania. Además, para orientar mejor la selección empírica de tratamientos antes de contar con los resultados de susceptibilidad antimicrobiana (antibioticograma), el CLSI recomienda que cada año el laboratorio publique un antibioticograma que contenga los resultados de los estudios de susceptibilidad en conjunto, correspondiente a combinaciones particulares de microorganismos y fármacos. Por ejemplo, puede ser importante tener conocimientos del antimicrobiano lactámico β más activo que actúa contra *Pseudomonas aeruginosa* en sujetos en la unidad de cuidados intensivos en un hospital particular, para así usar dicho agente si surge una infección de la persona en su permanencia en tal unidad.

Se conocen otros métodos para evaluar la eficacia del tratamiento antimicrobiano. Se pueden estimar los efectos bactericidas con el cultivo especializado (subcultivo) del caldo transparente en medios sólidos sin antibióticos. Se da el nombre de **concentración bactericida mínima** (MBC, *minimal bactericidal concentration*) a la disminución de 99.9% de las unidades formadoras de colonias, en un nivel menor del de la preparación testigo.

La selección de un fármaco bactericida o una combinación de medicamentos para cada paciente puede ser orientada por los datos de técnicas especializadas de laboratorio, pues miden la rapidez de muerte (técnica de tiempo de destrucción o muerte) o la proporción de la población microbiana destruida en un tiempo fijo (métodos bactericidas en suero).

En infecciones de vías urinarias, la actividad antibacteriana en orina es más importante que la observada en el suero.

DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN SEGÚN EL SITIO ANATÓMICO

Heridas, tejidos, huesos, abscesos y líquidos corporales

Los datos del estudio microscópico de extensiones y cultivos de muestras obtenidas de heridas o abscesos suelen indicar de forma temprana e importante la naturaleza del microorganis-

mo infectante y es un medio útil para la selección de antimicrobianos. Las muestras enviadas para biopsias histológicas diagnósticas deben ser sometidas a estudios bacteriológicos y también histológicos. Las muestras para el estudio bacteriológico no deben entrar en contacto con fijadores y desinfectantes y se fragmentan finamente y cultivan por medio de métodos diversos.

El pus en los abscesos cerrados, no drenados, de tejidos blandos, a menudo contiene sólo un microorganismo como agente infectante; muy a menudo en ellos están presentes estafilococos, estreptococos o bacilos entéricos gramnegativos, y la misma situación priva en el caso de la osteomielitis aguda, en que es posible cultivar los microorganismos provenientes de la sangre antes de que la infección se torne crónica. En abscesos abdominales y los que surgen junto a superficies mucosas y en heridas abiertas, a menudo se identifican microorganismos múltiples. Cuando las lesiones supuradas profundas como la osteomielitis crónica drenan al exterior a través de una fístula o un fondo de saco, es importante distinguir la flora de la superficie a través de la cual la lesión vierte pus u otro material, respecto de la flora propia de la lesión profunda. En vez de ello, hay que aspirar muestras de la infección primaria, a través de tejido no infectado.

El estudio bacteriológico del pus de lesiones cerradas o profundas debe incluir cultivo para detectar anaerobios. Las bacterias de ese tipo (*Bacteroides,* peptoestreptococos) a veces constituyen los gérmenes causales esenciales y a menudo hay mezclas de anaerobios.

Los métodos utilizados en los cultivos deben ser adecuados para la identificación semicuantitativa de bacterias comunes y también para la identificación de microorganismos especializados que incluyen micobacterias y hongos. La piel y las mucosas erosionadas suelen ser los sitios de asiento de infecciones por levaduras y hongos. A veces se detectan por métodos microscópicos en extensiones o preparaciones de material de raspado de zonas sospechosas, *Candida*, *Aspergillus*, y otras levaduras u hongos, y pueden proliferar en cultivos. El tratamiento con hidróxido de potasio y calcoflúor blanco mejora sensiblemente la observación de levaduras y hongos en la muestra.

El material exudado que se ha reunido en los espacios pleural, peritoneal, pericárdico o sinovial debe obtenerse por aspiración con una técnica aséptica. Si el material es francamente purulento se hacen directamente extensiones y cultivos. Si el líquido es transparente se le centrifuga a alta velocidad durante 10 min y el sedimento se usa en extensiones teñidas y en cultivo. El método de cultivo debe ser idóneo para la proliferación de microorganismos cuya presencia se sospecha sobre bases clínicas, por ejemplo micobacterias, anaerobios y también las bacterias piógenas de aparición frecuente. Algunas muestras de líquido se coagulan y a veces se necesita cultivar una muestra con anticoagulantes. Los siguientes resultados de bioquímica y hematología sugieren infección: densidad >1.018; contenido proteínico >3 g/100 ml (a menudo origina coagulación), y recuento celular mayor de 500 a 1 000 células/μl. En las infecciones piógenas agudas no tratadas predominan los polimorfonucleares; lo mismo ocurre con los linfocitos o los monocitos en caso de infección crónica. El trasudado que surge por la proliferación neoplásica a simple vista podría remedar el exudado infeccioso, al tener un aspecto sanguinolento o purulento y coagularse en reposo. El estudio citológico de extensiones o de secciones de células centrifugadas puede corroborar la naturaleza neoplásica del trastorno.

Sangre

La bacteriemia por lo común denota alguna enfermedad que puede ser mortal, razón por la cual es esencial su detección temprana. El cultivo de sangre constituye la técnica más importante para detectar infección sistémica por bacterias. Aporta información útil para tratar a sujetos febriles con cuadros agudos, con síntomas y signos de localización o sin ellos, y su práctica es esencial para todo paciente en quien se sospecha endocarditis infecciosa, incluso si el cuadro al parecer no es agudo ni muy grave. Además de su importancia diagnóstica, la identificación del agente infeccioso en la sangre constituye un elemento auxiliar utilísimo para seleccionar los antimicrobianos para la terapéutica. Por tal razón, se hará todo intento de aislar los microorganismos causales de la bacteriemia.

En personas sanas, las muestras de sangre obtenidas cuidadosamente son estériles. A pesar de que los microorganismos de la flora normal de vías respiratorias y gastrointestinales a veces penetran en la sangre, son eliminados casi inmediatamente por el sistema reticuloendotelial. Esta situación rara vez altera la interpretación de los resultados de los cultivos de sangre. Si con esta técnica se identifican microorganismos, el hecho asume enorme importancia clínica, a condición de que se excluya la contaminación en el laboratorio. La contaminación de cultivos de sangre con la flora cutánea normal muy a menudo depende de errores en la técnica de obtención de dicho líquido. Por consiguiente, es esencial al realizar un cultivo de sangre emplear la técnica más adecuada.

Las normas siguientes aplicadas estrictamente generan resultados fiables:

1. Usar una técnica estrictamente aséptica, con guantes que no necesariamente deben ser estériles.
2. Aplicar el torniquete y por el tacto identificar una vena fija. Liberar el torniquete mientras se prepara asépticamente la piel.
3. Se prepara la piel para punción venosa al limpiarla de manera vigorosa con alcohol isopropílico al 70 a 95%. Después de utilizar tintura de yodo al 2% o clorhexidina al 2% el técnico comenzará en el sitio de punción venosa y limpiará la piel en círculos concéntricos de diámetro cada vez mayor. Se permitirá que los materiales de la preparación antiséptica se sequen durante 30 s, como mínimo. Una vez preparada la piel, no debe ser tocada.
4. Aplicar de nuevo el torniquete, realizar la punción venosa (adultos) y extraer unos 20 mm de sangre.
5. Colocar la sangre en recipientes de cultivo “etiquetados” para aerobios y anaerobios.
6. Llevar las muestras al laboratorio inmediatamente o colocarlas en una incubadora a 37°C.

De algunos factores depende que los cultivos de sangre generen resultados positivos: el volumen de sangre cultivada, la dilución de la sangre en el medio de cultivo, el empleo de medios de cultivo para aerobios y anaerobios y la duración de la incubación. En los adultos por lo común se obtienen 20 a 30 ml por cultivo y la mitad de ese volumen se coloca en un recipiente para cultivo aeróbico de sangre y la otra mitad para anaeróbicos, y un par de recipientes comprenden un solo cultivo de sangre. Sin embargo, se necesitan volúmenes diferentes de sangre para los diversos sistemas de cultivo que existen en ella. Un sistema de cultivo de sangre muy usado utiliza recipientes que contienen 5 y no 10 ml de sangre. Una dilución óptima de sangre en

un medio líquido de cultivo es de 1:300 a 1:150, y de este modo se llevan al mínimo los efectos de los sistemas de anticuerpos, complemento y antibacterianos contra leucocitos que están presentes. Las grandes diluciones no son prácticas en los cultivos de sangre, y por ello los medios en cuestión contienen 0.05% de polianetolsulfonato sódico (SPS, *sodium polyanetholesulfonate*) que inhibe los sistemas antibacterianos de leucocitos. Sin embargo, SPS también inhibe la proliferación de algunas neiserias y cocos grampositivos anaeróbicos y de *Gardnerella vaginalis.* Si se sospecha la presencia de cualquiera de los microorganismos mencionados habrá que recurrir a otros sistemas de cultivo de sangre sin polianetolsufonato sódico.

Los cultivos de sangre se incuban durante cinco a siete días. Los sistemas de cultivo automatizados utilizan métodos diversos para detectar la positividad, es decir, la presencia de microorganismos; tales métodos automatizados permiten la revisión frecuente de los cultivos (incluso en el transcurso de unos minutos) y la detección más temprana de los positivos. Los medios en los sistemas de cultivo automatizado de sangre están tan enriquecidos y la detección es tan sensible que no es necesario procesar por más de cinco días los cultivos de sangre. En términos generales, los cultivos secundarios (subcultivos) están indicados sólo si el aparato indica la positividad del cultivo, es decir, la presencia de microorganismos. Los sistemas de cultivo manuales de sangre son obsoletos y posiblemente se utilicen sólo en laboratorios en países en desarrollo que no cuentan con los recursos para adquirir sistemas automatizados de hemocultivo. En los sistemas manuales, se revisan dos a tres veces al día durante los primeros dos días y diariamente después de esa fecha durante una semana los recipientes del cultivo de sangre. En el método manual, a veces se necesitan los cultivos secundarios (subcultivos) ciegos de todos los recipientes del hemocultivo en el segundo y séptimo días. El número de muestras de sangre que es necesario extraer para los cultivos y el lapso en el cual se hace la técnica, dependen en parte de la gravedad de la enfermedad clínica. En infecciones hiperagudas como en el caso de la sepsis por gramnegativos con choque o la sepsis por estafilococos es apropiado cultivar dos muestras de sangre obtenidas de sitios anatómicos diferentes, en un lapso de 5 a 10 min. En otras infecciones bacteriémicas, como la endocartidis subaguda, habrá que obtener tres muestras de sangre en el transcurso de 24 h. El total de tres cultivos de sangre permite identificar la bacteria infectante en más de 95% de los pacientes bacteriémicos. Si los tres cultivos iniciales arrojan resultados negativos y se sospecha algún absceso oculto, fiebre de origen no identificado u otra infección no esclarecida, habrá que cultivar más muestras de sangre, cuando sea posible, antes de emprender la terapia antimicrobiana.

Se cuenta con diversos tipos de recipientes para cultivo de sangre que contienen resinas u otras sustancias que absorben casi todos los antimicrobianos y también algunos factores del hospedador contra los microbios. Las indicaciones para utilizar recipientes que contienen resina comprenden las siguientes: el enfermo clínicamente séptico que recibe antimicrobianos, y que en los cultivos de sangre practicados no hay resultados positivos; el enfermo con signos clínicos de endocarditis y negatividad de los cultivos de sangre, que recibe antimicrobianos, y el paciente hospitalizado con sepsis, al que se administraron antimicrobianos antes de su internamiento. Para las revisiones de vigilancia de la eficacia de la terapia es importante no utilizar recipientes que contengan resina, porque la resina puede absorber antimicrobianos en la muestra y hacer que el cultivo se torne positivo, es decir, denote la presencia de gérmenes, a pesar de que la terapia sea clínicamente eficaz.

Es necesario evaluar la importancia de un cultivo de sangre positivo. Los criterios siguientes pueden ser útiles para diferenciar los "cultivos positivos verdaderos" de las muestras contaminadas:

1. La proliferación del mismo microorganismo en cultivos repetidos de material obtenido en fechas diferentes de sitios anatómicos separados sugiere fuertemente bacteriemia real.
2. La proliferación de microorganismos diferentes en distintos recipientes de cultivo sugiere contaminación, pero a veces tal situación surge después de problemas clínicos como fístulas enterovasculares.
3. La proliferación de la flora cutánea normal como serían estafilococos coagulasa negativos, difteroides (corinebacterias y propionibacterias) o cocos anaeróbicos grampositivos solamente en uno de grandes cultivos sugiere contaminación. La proliferación de tales microorganismos en varios cultivos o de muestras de un sujeto con prótesis vascular o un catéter en vena central incrementa la posibilidad de que exista bacteriemia clínicamente significativa.
4. Es posible que microorganismos como los estreptococos o los enterococos viridans proliferen en cultivos de sangre obtenida de sujetos en quienes se sospecha endocarditis, y bacilos gramnegativos como *E. coli* en cultivos de sangre de individuos con sepsis clínica por gramnegativos. Por tal razón, cuando se identifican los microorganismos "esperados" lo más probable es que tengan importancia etiológica.

Se señalan las especies bacterianas que se identifican más a menudo en cultivos positivos de sangre: estafilococos, que incluyen *S. aureus;* estreptococos viridans; enterococos, que incluyen *Enterococcus faecalis;* bacterias entéricas gramnegativas, que incluyen *E. coli* y *K. pneumoniae*; *P. aeruginosa*; neumococos y *H. influenzae*. En los cultivos de sangre proliferan especies de *Candida,* otras levaduras, y algunos hongos dimórficos como *H. capsulatum,* pero rara vez, si es que así ocurre, se identifican muchos hongos en la sangre. A veces se observan virus citomegálico y del herpes simple en cultivos de sangre, pero muchos virus, rickettsias y clamidias no se identifican por cultivo en la sangre. Los protozoos parásitos y los helmintos no se multiplican en cultivos de sangre.

En casi todos los tipos de bacteriemia no es útil el examen de las extensiones directas de sangre. La exploración diligente de extensiones de la capa de leucocitos, de sangre anticoagulada, en extensiones teñidas con técnica de Gram, permitirá detectar a veces bacterias en sujetos con infecciones por S. *aureus*, sepsis por clostridios o fiebre recurrente. En algunas infecciones por microbios (como el carbunco, la peste, la fiebre recurrente, la rickettsiosis, la leptospirosis, la espirilosis y la psitacosis), la inoculación de sangre a animales puede generar resultados positivos con mayor facilidad que el mismo cultivo. En cuanto a aspectos prácticos casi nunca se sigue tal práctica.

Orina

El estudio bacteriológico de la orina se practica más bien cuando los signos o los síntomas clínicos orientan hacia la presencia de una infección de vías urinarias, insuficiencia renal o hipertensión. Se la practicará siempre en personas en quienes se sospecha infec-

ción sistémica o fiebre de origen indeterminado. Es conveniente en el caso de mujeres en el primer trimestre de la gestación.

La orina que secretan los riñones es estéril, salvo que tales órganos estén infectados. La orina vesical no contaminada también es estéril por lo regular; sin embargo, la uretra contiene flora normal, de modo que la orina expulsada en forma normal contiene un número pequeño de bacterias. Es necesario diferenciar los microorganismos contaminantes de otros que tengan importancia en la causalidad de la enfermedad, razón por la cual sólo los estudios *cuantitativos* de orina pueden generar resultados significativos.

Las fases siguientes son esenciales en el estudio apropiado de la orina.

A. Obtención apropiada de la muestra

La obtención apropiada de la muestra constituye la medida más importante dentro de un cultivo de orina y la más difícil. Las muestras satisfactorias obtenidas de mujeres suelen generar problemas.

1. Se debe tener a la mano un recipiente con tapa de rosca estéril para colocar la muestra y dos a tres torundas de gasa humedecidas con solución salina no bacteriostática (no se recomienda utilizar jabones antibacterianos para la limpieza).
2. Con dos dedos suavemente se separarán los labios (vulvares) de la mujer, y se conservarán a los lados durante la fase de limpieza y colección de la muestra. Hay que secar la uretra una vez desde el frente hacia atrás con cada una de las gasas con solución salina.
3. Se iniciará la expulsión de la orina con el chorro y con el uso de un recipiente de colección se reunirá la muestra de mitad de chorro. Es importante marcar con toda exactitud los datos en el recipiente para orina.

El mismo método se utiliza para colectar muestras de varones; en los que no están circuncidados hay que conservar retraído el prepucio.

La aplicación de una sonda conlleva el peligro de introducir microorganismos en la vejiga, pero a veces esta situación es inevitable. El urólogo con un catéter durante la cistoscopia puede obtener muestras separadas del riñón derecho y el izquierdo y los uréteres correspondientes. Cuando está colocada una sonda a permanencia y un sistema de colección cerrado, habrá que obtener la orina por aspiración estéril del catéter con aguja y jeringa, y no del depósito de colección. Para resolver problemas diagnósticos, la orina se puede aspirar en forma aséptica y directa de la vejiga llena por medio de la punción suprapúbica en la pared abdominal.

En casi todas las exploraciones bastan 0.5 ml de orina ureteral o 5 ml expulsada por micción. Muchos tipos de microorganismos se multiplican rápidamente en la orina conservada a temperatura ambiental o corporal y por ello hay que entregar rápidamente las muestras de orina al laboratorio y refrigerarlas por un lapso que no exceda la medianoche y la madrugada.

B. Examen microscópico

El examen microscópico sencillo de la orina enseña mucho al clínico. Una gota de orina recién obtenida no centrifugada, llevada a una laminilla y cubierta con el cubreobjetos, y examinada con la intensidad restringida de luz con el objetivo seco de alta amplificación en un microscopio corriente puede indicar la presencia de leucocitos, células epiteliales y bacterias en caso de que el número de ellos rebase los 10^5/mililitro. La detección del número mencionado de microorganismos por mililitro en una muestra de orina reunida y estudiada de manera apropiada es una prueba de peso de que existe una infección activa de vías urinarias. La presencia de bacilos gramnegativos en una muestra de orina no centrifugada de mitad de chorro, en una extensión teñida por método de Gram, conlleva el diagnóstico de infección de vías urinarias.

La centrifugación breve de la orina permite sedimentar con facilidad células de pus que pueden portar bacterias, y de este modo, facilitar el diagnóstico microscópico de infección. La presencia de otros elementos formes en el sedimento o detectar proteinuria es poco útil para la identificación específica de una infección activa de vías urinarias. Las células de pus pueden aparecer sin bacterias y por lo contrario puede haber bacteriuria sin piuria. La presencia de innumerables células del epitelio escamoso, lactobacilos o flora mixta en los cultivos sugiere que la colección de orina fue inapropiada. Algunas tiras colorimétricas para orina contienen esterasa de leucocitos y nitrito, que miden los polimorfonucleares y las bacterias, respectivamente, en la orina. Las reacciones positivas con tal técnica sugieren fuertemente una infección bacteriana de vías urinarias.

Los laboratorios de microbiología clínica no cuentan con dichos elementos, pero otros de bioquímica han incorporado a los instrumentos automatizados o semiautomatizados para realizar análisis corrientes de orina. Los instrumentos en cuestión utilizan diversas técnicas para detectar leucocitos y bacterias. La práctica de tales sistemas es variable, pero permite estandarizar el gran número de muestras por estudiar, cosa que no podría realizarse con tiras colorimétricas.

C. Cultivo

Para arrojar resultados significativos, los cultivos de orina deben realizarse de manera cuantitativa. La orina reunida de manera adecuada se cultiva en cantidades medidas de medios sólidos y se cuentan las colonias que surgen después de la incubación, para saber el número de bacterias por mililitro. El método corriente es inocular 0.001 a 0.05 ml de orina sin diluir en cajas con agar sangre y otros medios sólidos, para el cultivo cuantitativo. Los medios se incuban durante toda la noche a 37°C; después se compara el número de microorganismos que proliferaron (densidad de crecimiento) con fotografías con diferentes ejemplos del mismo parámetro, en el caso de bacterias similares, y así se obtienen datos semicuantitativos.

En la pielonefritis activa, el número de bacterias en la orina reunida por sondas ureterales es relativamente pequeño. Las bacterias, en tanto se acumulan en la vejiga, se multiplican de modo rápido y pronto su número excede de 10^5/ml, cifra mucho mayor de la que podría obtenerse como consecuencia de contaminación por la flora de la uretra o la piel o del aire. Por esa razón, suele aceptarse que si por cultivo se identifican más de 10^5 colonias/ml en una muestra de orina reunida y cultivada de forma apropiada, ello constituye una prueba de peso de que existe infección activa de vías urinarias. La presencia de más de 10^5 bacterias del mismo tipo por mililitro en dos muestras consecutivas corrobora el diagnóstico de infección activa de vías urinarias, con una certidumbre de 95%. Si en el cultivo se detectan menos bacterias, conviene repetir el estudio de la orina para corroborar la presencia de infección.

La identificación de 10^4 bacterias por mililitro, que incluye diferentes tipos de ellas, sugiere que los microorganismos pro-

vienen de la flora normal y son contaminantes, por lo común de una colección inadecuada de la muestra. La presencia de 10^4/ml de un solo tipo de bacilos gramnegativos entéricos sugiere fuertemente infección de vías urinarias, en particular en varones. En ocasiones, mujeres jóvenes con disuria aguda e infección de vías urinarias tienen más de 10^2 a 10^3 microorganismos/mililitro. Si en los cultivos no se detectan gérmenes pero persisten los signos clínicos de infección de vías urinarias, hay que pensar en otras entidades como el "síndrome uretral", obstrucción ureteral, tuberculosis vesical, infección gonocócica u otras enfermedades.

Líquido cefalorraquídeo

La meningitis ocupa un lugar prominente entre las urgencias médicas y en ese caso es esencial el diagnóstico temprano, rápido y preciso. Tal identificación depende de conservar una fuerte sospecha de su presencia, o tener muestras adecuadas y estudiarlas a muy breve plazo. Es grande el peligro de muerte o de lesiones irreversibles si no se emprende inmediatamente el tratamiento, y por ello rara vez se cuenta con una nueva oportunidad de obtener muestras previas a la terapia, situación esencial para el diagnóstico etiológico específico y el tratamiento óptimo.

El aspecto diagnóstico más urgente es diferenciar entre la meningitis bacteriana purulenta aguda, de la meningitis "aséptica" y de la granulomatosa. La decisión inmediata por lo común se basa en el recuento celular, la concentración de glucosa y el contenido proteínico del líquido cefalorraquídeo y los resultados de la búsqueda microscópica de microorganismos (consúltese el Caso 1, cap. 48). La impresión inicial es modificada por los resultados del cultivo, los estudios serológicos, las pruebas de amplificación de ácido nucleico y otros métodos de laboratorio. Al evaluar las cifras de las mediciones de glucosa en líquido cefalorraquídeo hay que considerar de manera simultánea la glucemia. En algunas neoplasias del sistema nervioso central la glucosa en el líquido mencionado tiene nivel bajo.

A. Muestras

Tan pronto el clínico sospecha la posibilidad de infección del sistema nervioso central, tomará muestras de sangre para cultivo y también de líquido cefalorraquídeo. Para obtener este último realizará una punción lumbar con técnica aséptica estricta, y por todos los medios evitará comprimir el bulbo o la médula por la extracción rápida del líquido si hay notable hipertensión intracraneal. El líquido cefalorraquídeo por lo común se obtiene en tres o cuatro fracciones de 2 a 5 ml cada una, en tubos estériles. Ello permite la realización más cómoda y fiable de pruebas para obtener las cifras diferentes necesarias para planificar las medidas asistenciales y terapéuticas.

B. Estudios microscópicos

El laboratorista se encargará de hacer extensiones del sedimento del líquido cefalorraquídeo centrifugado. Es recomendable usar una centrífuga Cytospin para preparar las laminillas para tinción porque concentra con mayor eficacia el material celular y las bacterias, en comparación con la centrifugación corriente. Las extensiones se tiñen con el método de Gram. Al estudiar las extensiones teñidas con el objetivo de inmersión en aceite se pueden identificar diplococos gramnegativos intracelulares (meningococo), diplococos grampositivos intracelulares y extracelulares en forma de lanceta (neumococo) o pequeños bacilos gramnegativos (*H. influenzae* o bacilos gramnegativos entéricos).

C. Detección de antígeno

El antígeno de criptococo en el líquido cefalorraquídeo se puede detectar con las pruebas de aglutinación de látex o EIA; el de *S. pneumoniae* se puede detectar por inmunoanálisis de membrana.

D. Cultivo

Los métodos de cultivo deben facilitar la proliferación de microorganismos que suelen detectarse en la meningitis. En el agar sangre de carnero y agar chocolate, proliferan casi todas las bacterias y los hongos que causan meningitis. Para el diagnóstico de meningitis tuberculosa se necesitan cultivos en medios especiales (cuadro 47-2 y cap. 23). En caso de meningitis aséptica o meningoencefalitis, cabe intentar el aislamiento de virus. Es posible aislar de manera cabal el virus, del líquido cefalorraquídeo, en infecciones causadas por el virus de parotiditis, en la meningitis por herpes simple y en el caso de algunos enterovirus. Muchas de las infecciones del sistema nervioso central por virus se detectan mejor por métodos de amplificación de ácido nucleico.

E. Estudios de vigilancia en líquido cefalorraquídeo

La normalización del nivel de glucosa y del número de células en el líquido cefalorraquídeo es una prueba satisfactoria de que la terapia fue adecuada. La respuesta clínica asume importancia definitiva.

Secreciones de vías respiratorias

Los síntomas o los signos a menudo orientan hacia el ataque de alguna zona particular de las vías respiratorias y sobre tal base el personal escogerá las muestras. Al interpretar los resultados de estudios de laboratorio es necesario considerar la flora microbiana normal del área de la cual se obtuvo la muestra.

A. Muestras

1. Faringe. Muchas "faringitis" son causadas por infecciones por virus. Solamente 5 a 10% de tales casos en los adultos y 15 a 20% en niños provienen de infecciones bacterianas. Detectar un exudado amarillento folicular o una membrana grisácea debe despertar en el clínico la sospecha de que existe una infección por estreptococo hemolítico β del grupo A de Lancefield o infecciones diftérica, gonocócica, por fusoespiroquetas o candida; los signos en cuestión también pueden aparecer en infecciones como la mononucleosis, la causada por adenovirus y otras producidas por virus.

El operador podrá obtener muestras faríngeas con aplicador de cada zona amigdalina y de la pared retrofaríngea. La flora normal en tal región incluye en abundancia estreptococos viridans, neiserias, difteroides, estafilococos, bacilos gramnegativos pequeños y otros microorganismos. Es poco útil en infecciones por estreptococos el estudio microscópico de extensiones de exudado faríngeo obtenido por aplicador, porque en todos los casos en la faringe existen predominantemente estreptococos.

Los cultivos del exudado faríngeo obtenido con el aplicador generan resultados más fiables si se inoculan a breve plazo después de su obtención. Los medios selectivos para estreptococos pueden utilizarse para cultivar microorganismos del grupo A. Al sembrar el material en medio selectivo para estreptococos o placas de agar sangre para cultivo, es esencial distribuir un pequeño inóculo de manera uniforme y evitar la proliferación excesiva de flora normal; ello se puede lograr fácilmente al tocar el exudado

faríngeo del aplicador en una zona pequeña de la placa y utilizar otro aplicador estéril o un asa bacteriológica estéril para hacer la siembra de esa área. La detección de colonias de estreptococo hemolítico β se facilita al presionar firmemente tramos largos del agar (para obtener una menor tensión de oxígeno) e incubar la placa dos días a 37°C.

En los últimos 20 años se ha dispuesto ya de diversos métodos de detección de antígenos, sondas y estudios de amplificación de ácido nucleico para mejorar la detección de *Streptococcus pyogenes* del exudado faríngeo obtenido por aplicador en sujetos con faringitis estreptocócica aguda. En muchas circunstancias, los métodos de detección rápida han tenido la misma sensibilidad que el cultivo y lo han sustituido en muchos laboratorios. Es importante que el usuario sepa que tales métodos detectarán o descartarán solamente S. *pyogenes* y de este modo es imposible depender de sus resultados para el diagnóstico de faringitis bacteriana causada por otros patógenos. Un algoritmo incluiría comenzar con una prueba rápida y enviar para cultivo las muestras que en la prueba rápida no generaron resultados positivos.

2. Nasofaringe. Pocas veces se estudian las muestras de la nasofaringe porque se necesitan técnicas especiales para su obtención (consúltese más adelante Diagnóstico de infecciones por virus). La tos ferina se diagnostica al cultivar el material de lavado nasofaríngeo o nasal en busca de *B. pertussis* o por amplificación por PCR del DNA de ese microorganismo en la muestra.

3. Oído medio. Rara vez se obtienen muestras del oído medio porque habría que puncionar la membrana del tímpano. En la otitis aguda media, 30 a 50% de los líquidos aspirados son bacteriológicamente estériles. Las bacterias aisladas con mayor frecuencia son neumococos, *H. influenzae, Moraxella catarrhalis* y estreptococos hemolíticos.

4. Vías respiratorias bajas. Las secreciones y exudados bronquiales y pulmonares suelen estudiarse al examinar el esputo. El aspecto más desorientador de tal examen es la casi inevitable contaminación con saliva y flora bucal. Sobre tal base, la detección de *Candida*, *S. aureus* o incluso *S. pneumoniae* en el esputo de una persona con neumonitis no tiene importancia etiológica, salvo que haya confirmación por los signos clínicos. Las muestras de esputo, para que sean significativas, deben ser expectoradas y contener material de vías respiratorias bajas y totalmente diferentes de la saliva. La presencia de innumerables células del epitelio pavimentoso sugiere contaminación importante con saliva; la abundancia de polimorfonucleares (PMN, *polymorphonuclear leukocytes*) sugiere un exudado purulento. La producción de esputo se puede inducir por la inhalación durante varios minutos de un aerosol de solución salina hipertónica. En la neumonía acompañada de derrame pleural, en el líquido de esa zona se pueden identificar con mayor fidelidad los microorganismos causales que tiene el esputo. Si se sospecha tuberculosis, en el material de lavado gástrico (esputo deglutido) se pueden detectar microorganismos si no se puede obtener material expectorado, por ejemplo, en el niño.

5. Aspiración transtraqueal, broncoscopia, biopsia pulmonar y lavado broncoalveolar. La flora en las muestras en cuestión suele reflejar con precisión los fenómenos que ocurren en la zona baja de las vías respiratorias. A veces se necesita obtener muestras por broncoscopia para el diagnóstico de neumonía por *Pneumocystis* o la infección por *Legionella* u otros microorganismos. Las muestras de lavado broncoalveolar son particularmente útiles en pacientes inmunodeprimidos con neumonía difusa.

B. Examen microscópico

Las extensiones de flemas purulentas o gránulos de esputo, teñidas por los métodos de Gram o para acidorresistentes puede indicar la presencia de microorganismos causales y polimorfonucleares. Es posible realizar una prueba directa de hinchazón capsular de neumococos, con suero polivalente en esputo recién obtenido.

C. Cultivo

Los medios utilizados para cultivar esputo deben ser adecuados para la proliferación de bacterias (como neumococos, *Klebsiella*), hongos (como *C. immitis*), micobacterias (como *M. tuberculosis*) y otros microorganismos. Las muestras obtenidas por broncoscopia y biopsia de pulmón también se cultivarán en otros medios (como el que se usa para anaerobios, *Legionella* y otras). El operador debe estimar la prevalencia relativa de microorganismos diferentes en la muestra. Solamente detectar un germen predominante o el aislamiento simultáneo de un microorganismo de esputo en sangre podrá definir con nitidez su participación en un proceso neumónico o supurativo.

Muestras obtenidas del tubo digestivo

Los síntomas agudos que corresponderían al tubo digestivo, en particular náusea, vómito y diarrea suelen atribuirse a alguna infección. En realidad muchos de los ataques de ese tipo provienen de intolerancia a alimentos o bebidas, presencia de enterotoxinas, consumo de fármacos o enfermedades sistémicas.

Muchos casos de diarrea infecciosa aguda son causados por virus que no pueden identificarse porque no proliferan en cultivos tisulares. Por otra parte, muchas de las partículas mencionadas que pueden proliferar en cultivos (como los adenovirus, o los enterovirus), se multiplican en el intestino sin causar síntomas gastrointestinales. En forma similar algunos patógenos bacterianos entéricos persisten en los intestinos después de una infección aguda. Por todo lo expuesto, es difícil a veces atribuir importancia a un agente bacteriano o a un virus cultivado de las heces, especialmente en enfermedades subagudas o crónicas.

Las consideraciones anteriores deben ser un acicate para que el médico intente el aislamiento de microorganismos entéricos, por medios de laboratorio, pero constituyen una señal anticipatoria de algunas dificultades frecuentes en la interpretación de los resultados.

La zona ileocólica tiene un número extraordinariamente grande de microorganismos bacterianos en su flora normal. Los que más prevalecen son los anaerobios (*Bacteroides*, bacilos y cocos grampositivos), microorganismos entéricos gramnegativos y *E. faecalis*. Cualquier intento de obtener bacterias patógenas de las heces obliga a separar los patógenos respecto de la flora normal, y para ello utilizar medios selectivos diferenciales y cultivos de enriquecimiento. Entre las causas importantes de gastroenteritis aguda están virus, toxinas (de estafilococos, clostridios, vibriones, *E. coli* toxígena), bacilos gramnegativos entéricos invasores, fermentadores lentos de lactosa, shigelas y salmonelas y *Campylobacter*. La importancia relativa de los grupos

mencionados de microorganismos muestra enormes diferencias en diversas zonas del mundo.

A. Muestras

Las muestras que se pueden obtener con mayor facilidad son las de heces y las de aplicadores rectales. En la bilis obtenida por drenaje duodenal se puede detectar una infección de vías biliares. La presencia de sangre, moco o helmintos, se confirma por la inspección visual de la muestra. La presencia de leucocitos en las suspensiones de heces examinadas por microscopio o la detección de lactoferrina, proteína proveniente de tales células, constituyen formas útiles para diferenciar las diarreas por infecciones por gérmenes invasores, de las producidas por no invasores. Sin embargo, es importante destacar que los leucocitos pueden estar en cuadros inflamatorios no infecciosos del tubo digestivo. Es necesario recurrir a técnicas especiales para buscar protozoos y helmintos parásitos y sus huevos. Por medio de extensiones teñidas se puede identificar la presencia de leucocitos y algunos microorganismos anormales como candida o estafilococos, pero no son útiles para diferenciar los patógenos bacterianos entéricos de la flora normal.

B. Cultivo

Las muestras se suspenden en caldo y se cultivan en medios corrientes y en los diferenciales (como los agares de MacConkey o EMB) que permiten la separación de bacilos gramnegativos que no fermentan la lactosa respecto de otras bacterias entéricas. En caso de sospechar una salmonelosis habrá que colocar la muestra en un medio enriquecido (como el caldo de selenita F) durante 18 h antes de inocularlo en medios diferenciales (como el agar entérico de Hektoen o el agar para *Shigella-Salmonella*). Existe mayor posibilidad de aislar *Yersinia enterocolitica* después de almacenar durante dos semanas a 4°C suspensiones fecales, pero se puede aislar en agar para Yersinia o para *Shigella-Salmonella* incubado a 25°C. Los vibriones se multiplican mejor en el agar sacarosa con sales biliares y citrato de tiosulfato. *Campylobacter* termófilo se aísla en agar de Campy o en medio selectivo de Skirrow incubados a 40 a 42°C en una atmósfera de 10% de CO_2 con una tensión de O_2 muy pequeña. Las colonias bacterianas se identifican por métodos bacteriológicos corrientes. La aglutinación de bacterias a partir de colonias sospechosas, por antisueros específicos de varios donadores, suele ser el método más rápido para definir la presencia de salmonelas o shigelas en las vías intestinales.

C. Métodos no basados en cultivos

En la práctica clínica se cuenta con EIA para detectar patógenos entéricos específicos, de manera directa en muestras de heces o para confirmar su multiplicación en caldo o medios inoculados. También se dispone de EIA que detectan toxinas de Shiga números 1 y 2 en casos sospechosos de colitis causada por *E. coli* enterohemorrágica (llamada también toxina de Shiga que produce STEC o *E. coli*), y son mejores que los cultivos. Se dispone también de EIA para la detección directa de patógenos virales como rotavirus, adenovirus 40, 41 y norovirus; bacterias patógenas como *Campylobacter jejuni*, y los protozoos parásitos *Giardia lamblia, Cryptosporidium parvum* y *Entamoeba histolytica.* Los datos útiles de tales valoraciones son variables.

Los parásitos intestinales y sus huevos se identifican por el estudio microscópico repetido de muestras de heces recién obtenidas; ellas necesitan manejo especial en el laboratorio (cap. 46).

Enfermedades de transmisión sexual

Los microorganismos que ocasionan la secreción de la uretritis en genitales de varones son *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*. La endocervicitis en mujeres es causada por *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis*. Las úlceras en genitales propias de enfermedades de varones y mujeres por igual, suelen ser de herpes simple, y con menor frecuencia sífilis y chancroide, en algunas ocasiones por linfogranuloma venéreo y raras veces por granuloma inguinal. Cada una de las enfermedades mencionadas posee su evolución natural característica, propia y de sus lesiones, pero una puede asemejarse a la otra. En otros apartados del libro se expone el diagnóstico por medio de laboratorio de casi todas las infecciones en cuestión. Más adelante serán señalados unos cuantos métodos diagnósticos que se incluyen en el cuadro 47-2.

A. Gonorrea

La presencia de diplococos gramnegativos intracelulares en una extensión teñida de exudado uretral o cervicouterino sugiere netamente gonorrea. La sensibilidad de tal estudio se acerca al 90% en el caso de varones y de 50% en las mujeres; por tal razón, para ellas se recomienda practicar cultivo o un método de amplificación de ácido nucleico. El material como exudado o el obtenido del recto o la faringe por aplicador debe ser inoculado inmediatamente en los medios especiales para la proliferación de *N. gonorrhoeae*. También se pueden realizar métodos moleculares para detectar el DNA de dicho diplococo en exudados uretrales, cervicouterinos o en orina, pero a veces surgen pruebas positivas falsas por la detección de secuencias de DNA de neiserias no patógenas, y varía con el tipo de plataformas comerciales. Los métodos serológicos no son útiles.

B. Infecciones por clamidias en genitales

Consúltese la sección sobre el diagnóstico de clamidiosis, más adelante.

C. Herpes genital

Consúltese el capítulo 33 y el apartado del diagnóstico de infecciones por virus más adelante.

D. Sífilis

El estudio en campo oscuro o por inmunofluorescencia del líquido exprimido de la base del chancro puede indicar la presencia de *T. pallidum* típico. Las pruebas serológicas de sífilis se positivizan tres a seis semanas después de la infección. La prueba positiva de floculación (VDRL, *venereal disease research laboratory* o RPR, *rapid plasma reagin*) necesita confirmación. La positividad de la prueba de anticuerpos inmunofluorescentes contra treponema (como FTA-ABS, aglutinación de partículas de *T. pallidum* [TP-PA, Treponema pallidum *particle agglutination*]) (consúltese el cap. 24) corrobora la existencia de una infección sifilítica.

E. Chancroide

En la extensión de material de la lesión supurada, por lo común se identifica flora bacteriana mixta. El material obtenido de aplicadores en las lesiones debe cultivarse a 33°C en dos o tres medios selectivos para *Haemophilus ducreyi*. Los estudios serológicos no son útiles.

F. Granuloma inguinal

En algunos medios bacteriológicos complejos se puede detectar *Klebsiella* (antes *Calymmatobacterium*) *granulomatis*, el agente causal de esta lesión dura, granulomatosa y proliferativa, aunque rara vez se intenta y es muy difícil obtener con ellos buenos resultados. La demostración histológica de los llamados "cuerpos de Donovan" intracelulares en material de biopsia muy a menudo refuerza la impresión clínica. Los métodos serológicos no son útiles.

G. Vaginosis/vaginitis

La vaginosis bacteriana causada por *G. vaginalis* o *Mobiluncus* (consúltese el cap. 21 y el Caso 13 del cap. 48) se diagnostica en la sala de exploración al revisar la secreción vaginal; esta es: 1) grisácea y a veces espumosa; 2) su pH es mayor de 4.6; 3) tiene un olor amínico "a pescado" cuando se alcaliniza con hidróxido de potasio, y 4) contiene "células granulosas de la vaginosis" que son grandes células epiteliales cubiertas por bacilos gramnegativos o de identidad variable en la tinción de Gram. Se utilizan observaciones similares para el diagnóstico de la infección por *Trichomonas vaginalis* (cap. 46); los microorganismos móviles se identifican en preparados húmedos o se cultivan a partir de la secreción genital. La vaginitis por *Candida albicans* se diagnostica por la presencia de seudohifas en la preparación de hidróxido de potasio de la secreción vaginal o por cultivo.

INFECCIONES POR ANAEROBIOS

La mayor parte de las bacterias que componen la microbiota humana normal son anaerobios. Cuando se desplazan de sus sitios normales y pasan a tejidos o espacios corporales pueden ocasionar enfermedades. Algunas características sugieren la infección por ellos: 1) a menudo surgen en zonas contiguas a una superficie mucosa; 2) tienden a aparecer en mezclas de microorganismos; 3) tienden a formar infecciones en espacios cerrados como abscesos circunscritos (de pulmón, cerebro, pleura, peritoneo o pelvis) o al despegar a través de capas tisulares; 4) el pus de las infecciones por anaerobios es fétido; 5) muchos de los anaerobios importantes patogénicamente, salvo *Bacteroides* y algunas especies de *Prevotella,* son muy susceptibles a la penicilina G; 6) las infecciones por anaerobios surgen fácilmente cuando disminuye el riego sanguíneo, hay tejido necrótico o es bajo el potencial de oxidorreducción, factores que interfieren en la llegada de antimicrobianos a esa zona, y 7) es esencial el uso de métodos especiales de colección, de medios de transporte y técnicas y medios sensibles a anaerobios para aislarlos. De no seguir tales precauciones a veces no se identifican en el estudio bacteriológico o sólo accidentalmente se detectan aerobios (consúltese también el cap. 21).

Los aparatos y sistemas siguientes constituyen sitios de importantes infecciones por anaerobios.

Vías respiratorias

Las infecciones periodontales, los abscesos peribucales, la sinusitis y la mastoiditis son causados predominantemente por *Prevotella melaninogenica, Fusobacterium* y peptoestreptococos. La aspiración de saliva puede ocasionar neumonía necrosante, abscesos pulmonares y empiema. Para el tratamiento son esenciales los antimicrobianos y el drenaje postural o quirúrgico.

Sistema nervioso central

Los anaerobios rara vez causan meningitis, pero son causas frecuentes de abscesos cerebrales, empiema subdural y tromboflebitis séptica. Los gérmenes por lo común provienen de las vías respiratorias y llegan al cerebro, por extensión o por la sangre.

Infecciones intraabdominales y pélvicas

La flora del colon comprende predominantemente anaerobios a razón de 10^{11} por gramo de heces. *B. fragilis,* clostridios y peptoestreptococos intervienen de manera predominante en la formación de abscesos, que surgen en caso de perforación del intestino. En los abscesos pélvicos, que nacen en el aparato genital de la mujer, son importantes *Prevotella bivia* y *Prevotella disiens.* A semejanza de *B. fragilis,* las especies mencionadas suelen ser relativamente resistentes a la penicilina y por tal razón habrá que recurrir a la clindamicina, al metronidazol u otro agente eficaz.

Infecciones de piel y tejidos blandos

Los anaerobios y las bacterias aeróbicas a menudo se complementan para originar infecciones "sinérgicas" (gangrena, fascitis necrosante y celulitis). Las formas más importantes de tratamiento en tales casos son el drenaje quirúrgico, la extirpación y la mejoría de la circulación, en tanto que actúan como complemento los antimicrobianos. Suele ser difícil atribuir a un solo microorganismo específico la lesión progresiva, porque por lo común participan combinaciones o mezclas de ellos.

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES POR CLAMIDIAS

C. trachomatis, Chlamydophila pneumoniae y *Chlamydophila psittaci* son bacterias, pero son parásitos intracelulares obligados. Para los cultivos y otros métodos diagnósticos de identificación de clamidias se necesitan técnicas muy similares a las usadas en los laboratorios de virología diagnóstica, y no las que se usan en las de bacteriología y micología. Por esa razón, el diagnóstico de infecciones por clamidias se expone en una sección separada de este capítulo. El diagnóstico de tales infecciones por técnicas de laboratorio también se señala en el capítulo 27.

Muestras

En el caso de las infecciones oculares y genitales por *C. trachomatis*, hay que colectar de los sitios infectados las muestras para examen directo o cultivo, por medio de presión vigorosa de los aplicadores o el raspado de la superficie epitelial afectada. Los cultivos de secreciones purulentas no son adecuados y antes de obtener la muestra habrá que eliminar dicho material. De ese modo, en el caso de la conjuntivitis de inclusión se obtiene una raspadura conjuntival; en el caso de la uretritis se obtiene una muestra con aplicador, de un tramo que mida algunos centímetros del interior de la uretra y en el caso de la cervicitis la muestra se obtiene de la superficie de células cilíndricas del conducto endocervical. Se pueden utilizar muestras obtenidas por aplicador, u orina para las pruebas de amplificación de ácido nucleico. Cuando se sospecha en una mujer una infección de la zona superior de

las vías genitales, una muestra adecuada serían las raspaduras del endometrio. El líquido obtenido por culdocentesis o aspiración de la trompa uterina contiene pocos microorganismos (*C. trachomatis*) que se recuperan en el cultivo.

En el caso de *C. pneumoniae*, conviene utilizar muestras nasofaríngeas obtenidas por aplicador (no de la faringe).

En los pacientes de linfogranuloma venéreo, el material de aspiración de las bubas o ganglios fluctuantes constituye la mejor muestra para cultivo.

En lo que se refiere a la psitacosis, por medio del cultivo de esputo, sangre o material de biopsia se puede identificar *C. psittaci*; la técnica anterior no se practica corrientemente en los laboratorios clínicos, porque obliga a practicar métodos especializados, y también por el peligro que conlleva para el personal de laboratorio. Las muestras obtenidas por aplicador, raspaduras y los tejidos, deben colocarse en un medio (de laboratorio) adecuado para el transporte. Uno de ellos, que es útil, incluye sacarosa a razón de 0.2 mol/L en una solución amortiguadora de fosfato al 0.02 M con pH de 7.0 a 7.2, con suero al 5% de feto de ternera. Otros medios pueden ser igualmente idóneos. El medio de laboratorio, para que sea útil en el transporte, debe contener antibióticos para suprimir la proliferación de bacterias diferentes de la especie de clamidias. Se pueden utilizar en combinación porque no inhiben la proliferación de dicho microorganismo, 10 μg de gentamicina/ml, 100 μg de vancomicina/ml y 4 μg de anfotericina B/mililitro. Si es imposible preparar y estudiar rápidamente las muestras, habrá que refrigerarlas durante 24 h; de lo contrario se les congelará a –60°C o una temperatura menor hasta que se trabaje con ellas.

Estudios microscópicos y tinciones

El estudio citológico es importante y útil solamente para el examen de raspaduras conjuntivales a fin de diagnosticar conjuntivitis de inclusión y tracoma causados por C. *trachomatis*. Se identifican las típicas inclusiones intracitoplásmicas, clásicamente en las muestras teñidas con técnica de Giemsa. Cabe recurrir a los anticuerpos monoclonales conjugados con fluoresceína, para el estudio directo de muestras de vías genitales y muestras oculares, pero no tienen la misma sensibilidad que el cultivo en busca de clamidias o los métodos de diagnóstico molecular.

Cultivo

Cuando se necesita cultivo, se recomiendan técnicas idóneas celulares para el aislamiento de especies de *Chlamydia*. El cultivo para detectar *C. trachomatis* y *C. psittaci* por lo común comprende la inoculación de las muestras clínicas en células de McCoy tratadas con cicloheximida, en tanto que para identificar *C. pneumoniae* se necesitan células de HL (linfoma histiocítico [*hystiocitic lymphoma*]) o HEP-2 (células de tumor laríngeo humano [*human laringeal tumor cells*]) pretratadas. Una técnica utiliza la proliferación confluente en células de McCoy en cubreobjetos de 13 mm en pequeños viales desechables. El inóculo se coloca en viales desechables y se centrifuga hasta la aparición de monocapas, a 3 000 × *g*, a lo que seguirá la incubación a 35°C durante 48 a 72 h, y se tiñe. Para detectar *C. trachomatis*, se usan para identificar las inclusiones intracitoplásmicas inmunofluorescencia, tinción de Giemsa o de yodo. De las tres técnicas anteriores, las inmunofluorescentes son las más sensibles, pero necesitan reactivos inmunofluorescentes especiales y técnicas microscópicas peculiares. El método de Giemsa es más sensible que el yodo, pero la revisión microscópica es más difícil. La segunda técnica de cultivo utiliza células de McCoy en placas de microdilución con 96 cuencos y tinción con yodo o anticuerpos fluorescentes. El área superficial de la monocapa es menor y también lo es el inóculo, razón por la cual el método de placa por microdilución es menos sensible que la técnica de cubreobjetos-vial.

Las inclusiones de *C. trachomatis* captan el yodo, pero no lo hacen las inclusiones de *C. pneumoniae* y *C. psittaci* (cap. 27). Las dos especies mencionadas se diferencian de *C. trachomatis* por sus respuestas diferentes a la tinción con yodo y por su susceptibilidad a la sulfonamida. *C. pneumoniae* en cultivo se detecta por medio de un anticuerpo monoclonal con especificidad de género o aún mejor, con especificidad de especie. Las técnicas serológicas para diferenciación por especies no son prácticas, aunque *C. trachomatis* puede ser tipado por el método de microinmunofluorescencia.

Detección de antígeno e hibridación de ácido nucleico

Los enzimoinmunoanálisis (EIA) se utilizan para detectar antígenos de clamidia en muestras de vías genitales en personas con enfermedades de transmisión sexual. El EIA, en comparación con las técnicas de cultivo más sensibles respecto a clamidia (véase antes), posee una sensibilidad aproximada de 90% y especificidad de 97%, en promedio, cuando se utiliza en poblaciones con una prevalencia moderada o grande de la infección (5 a 20%). En dicho contexto, la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos positivos son aproximadamente semejantes a los del método de anticuerpos fluorescentes directos (DFA, *direct fluorescent antibody*).

Se obtienen en el mercado equipos comerciales con sondas moleculares que no tienen radionúclidos para detectar las secuencias de 16S RNA de *C. trachomatis* para la identificación directa del microorganismo en muestras clínicas. La sensibilidad y la especificidad globales del método mencionado son 85 y 98 a 99%, respectivamente. También se han creado y distribuido comercialmente métodos de amplificación de ácido nucleico que se basan en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*), la amplificación mediada por transcripción o la amplificación del desplazamiento del cordón. Las pruebas mencionadas son mucho más sensibles que el cultivo y otros métodos sin amplificación, que necesitaron una redefinición de la sensibilidad en la corroboración de una infección por clamidias, hecha en el laboratorio. La especificidad de los métodos en cuestión al parecer se acerca a 100% (cap. 27).

Serología

El método de fijación de complemento (CF, *complement fixation*) se utiliza ampliamente para diagnosticar psitacosis. El diagnóstico serológico de las clamidosis se expone en el capítulo 27.

El método de microinmunofluorescencia es más sensible que el de fijación de complemento para cuantificar los anticuerpos contra clamidia. Tiene valor de confirmación diagnóstica cuando el título de anticuerpos IgG aumenta cuatro tantos, en los sueros de la fase aguda y de convalecencia. Sin embargo, es difícil a veces demostrar el incremento del título de dicha inmunoglobulina por las elevadas cuantificaciones que posee ya la población sexualmente activa. La medición de anticuerpos IgM es particularmente útil en el diagnóstico de neumonía por *C. trachomatis* en neonatos. Los hijos de madres con clamidiosis tienen anticuerpos séricos de tipos IgG anticlamidias, provenientes de la circulación materna. Los neonatos con infecciones de ojos o vías respiratorias altas tienen cuantificaciones pequeñas de IgM con-

tra clamidia, en tanto que quienes tienen neumonía por clamidias tienen cantidades de dicha inmunoglobulina de 1:32 o mayor.

DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES POR VIRUS

En la virología diagnóstica se necesita comunicación entre el médico y el personal de laboratorio, y depende de la buena calidad de las muestras y de la información que llegue a ese personal.

La selección de métodos para confirmar la presencia de una infección por virus, por medios de laboratorio, depende de la fase de la enfermedad (cuadro 47-4). Para las pruebas de anticuerpos se necesita obtener muestras a intervalos apropiados, y a menudo el diagnóstico se confirma sólo en la convalecencia. El aislamiento de un virus o la detección de su antígeno son necesarios: 1) cuando surgen epidemias nuevas como el caso de la influenza; 2) si los métodos serológicos no son útiles, y 3) cuando la misma enfermedad en personas pueden causarla múltiples agentes diferentes. Por ejemplo, la meningitis aséptica (no bacteriana) puede ser causada por innumerables virus; en forma similar, los síndromes en vías respiratorias pueden ser producidos por innumerables virus y también por micoplasmas y otros agentes.

Los métodos diagnósticos basados en técnicas de amplificación de ácidos nucleicos pronto sustituirán a algunos de los cultivos en busca de virus, aunque no todos. Sin embargo, no cambiará la necesidad de la colección de una muestra apropiada y la interpretación de los datos de las pruebas. Además, surgen situaciones en que se desea la "recuperación" del agente infeccioso.

Con el aislamiento de un virus tal vez no se defina la causa de una enfermedad particular y en estos casos hay que considerar otros muchos factores. Algunos virus persisten en los hospedadores humanos por largo tiempo y por esa razón la identificación de virus herpético, de polio, echo o coxsackie de una persona con una enfermedad no diagnosticada, no equivale a que el virus la cause. Es importante definir un perfil clínico y epidemiológico congruente antes de afirmar que un agente particular causó un cuadro clínico específico.

Es posible aislar con alguna facilidad muchos virus en los primeros días de la enfermedad. Las muestras por utilizar en los intentos de aislamiento se incluyen en el cuadro 47-5. Para corroborar el diagnóstico son útiles la correlación del virus aislado y la presencia de anticuerpos, aunque es una técnica que pocas veces se practica.

CUADRO 47-4 Relación de la etapa de la enfermedad con la presencia del virus en materiales de estudio y aparición del anticuerpo específico

Etapa o periodo de la enfermedad	Virus detectable en materiales de estudio	Anticuerpo específico demostrable[a]
Incubación	Rara vez	No
Pródromo	En ocasiones	No
Comienzo	Con frecuencia	En ocasiones
Fase aguda	Con frecuencia	Con frecuencia
Recuperación	Rara vez	Por lo regular
Convalecencia	Muy rara vez	Por lo regular

[a]El anticuerpo se puede detectar desde fase muy temprana en personas vacunadas.

Las muestras se refrigeran incluso durante 24 h antes de realizar los cultivos en busca de virus, con la excepción de los virus sincicial respiratorio y otros más. De no ser así, habrá que refrigerar el material (de preferencia a −60°C o temperaturas menores), si existe algún retraso en su transporte al laboratorio. Las muestras que no deben congelarse incluyen: 1) sangre completa extraída para cuantificación de anticuerpos, a partir de la cual debe separarse el suero antes de congelarla, y 2) tejidos para cultivo de órganos y células que deben ser conservados a 4°C y llevados inmediatamente al laboratorio.

El virus aparece en enfermedades de vías respiratorias, en las secreciones de faringe o vías nasales; su presencia se demuestra en el líquido, en la faringe y en el material de raspadura de la base de las erupciones vesiculares. En infecciones oculares se detecta el material obtenido por aplicadores o raspaduras de conjuntivas y en las lágrimas. Las encefalitis se diagnostican con mayor facilidad si se cuenta con medios serológicos o métodos de amplificación de ácidos nucleicos. Por lo común no se detectan en el líquido cefalorraquídeo los arbovirus y los herpesvirus, pero el tejido encefálico en personas con encefalitis por virus puede aportar el virus causal. En las enfermedades causadas por enterovirus como las del sistema nervioso central, pericarditis aguda y miocarditis, es posible aislar el virus de las heces, exudado faríngeo obtenido con aplicador, o líquido cefalorraquídeo. Sin embargo, como ha sido comentado, la amplificación de ácido nucleico constituye uno de los métodos preferidos para detectar enterovirus en el líquido cefalorraquídeo. Las pruebas con anticuerpos fluorescentes directos pueden tener la misma sensibilidad que los cultivos para detectar infecciones de vías respiratorias con virus sincicial respiratorio, de influenzas A y B, de parainfluenza y los adenovirus. Los estudios en cuestión generan datos esclarecedores en término de horas de haber reunido la muestra, en comparación con los días que deben transcurrir para obtener los resultados del cultivo de virus, razón por la cual se han vuelto los métodos más indicados y el diagnóstico etiológico de infecciones por virus en vías respiratorias.

Examen directo del material clínico: técnicas microscópicas y tinciones

Entre las enfermedades por virus en que ha sido útil el estudio microscópico directo de "impresiones" o extensiones están la rabia y la infección por herpes simple y las infecciones cutáneas por varicela-zóster. El método más indicado para el diagnóstico corriente de rabia es teñir los antígenos virales por inmunofluorescencia en extensiones de tejido encefálico e impresiones corneales del animal rabioso y de la piel de la nuca de los seres humanos.

Cultivo del virus

A. Preparación de los inóculos

Es posible inocular directamente en cultivos celulares o después de dilución con solución de fosfato amortiguada (pH 7.6) líquidos sin bacterias como el cefalorraquídeo, el sanguíneo total, el plasma o la capa de leucocitos. Solamente en laboratorios especializados se practica la inoculación de huevos embrionados o de animales para aislar el virus.

El tejido es lavado en medios idóneos o agua estéril, se le fragmenta en segmentos pequeños con tijeras, y se muele para

hacer una pasta homogénea. Se le agrega diluyente en cantidades suficientes para obtener una concentración de 10 a 20% (peso/volumen); la suspensión se centrifuga a una velocidad que no exceda de 2 000 revoluciones por minuto durante 10 min, para que se sedimenten los restos celulares insolubles. El líquido sobrenadante puede inocularse y si incluye bacterias se eliminan como se comentará adelante.

Los tejidos también pueden ser tratados con tripsina y la suspensión celular resultante puede ser: 1) inoculada en una monocapa celular de un cultivo tisular existente o 2) cultivada conjuntamente con otras suspensiones de células, en las que se tiene la certeza de que no hay virus.

Si el material por estudiar contiene bacterias (del lavado faríngeo, heces, orina, tejido infectado o insectos), deben ser inactivadas o eliminadas antes de la inoculación.

1. Bactericidas. Los antibióticos suelen utilizarse en combinación con la centrifugación diferencial (véase adelante).

2. Métodos mecánicos

a. *Filtros.* Se prefieren los filtros de membrana de tipo millipore, de acetato de celulosa o de un material inerte similar.

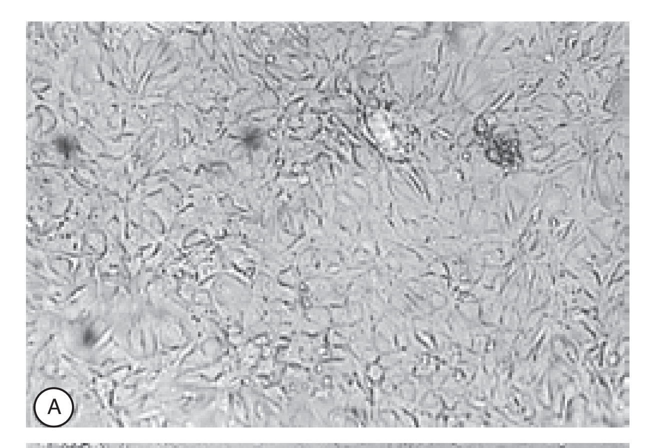
b. *Centrifugación diferencial.* Constituye un método cómodo para eliminar muchas bacterias, de preparados de virus pequeños, fuertemente contaminados. Las bacterias se sedimentan a baja velocidad que no logra sedimentar a los virus y con la centrifugación a gran velocidad se sedimentan estos últimos. Después de ello el sedimento con los virus se suspende de nuevo en un volumen pequeño de la solución.

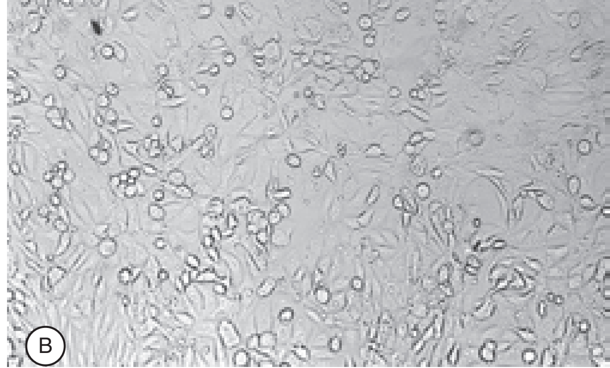
B. Cultivo en cultivo celular

Las técnicas de cultivo celular han sido sustituidas por métodos de detección de antígeno y técnicas de amplificación de ácidos nucleicos. Sin embargo, siguen siendo útiles y se les realiza en laboratorios clínicos y de salud pública especializados en virología. Cuando los virus se multiplican en un cultivo celular originan efectos biológicos (p. ej., cambios citopáticos, interferencia viral, producción de una hemaglutinina) que permiten identificar el agente.

Los cultivos en tubos de ensayo se preparan al adicionar células suspendidas en 1 a 2 ml de líquido nutriente que contiene soluciones salinas "proporcionadas" y varios factores de crecimiento (por lo común suero, glucosa, aminoácidos y vitaminas). Las células de naturaleza fibroblástica o epitelial se fijan y proliferan en la pared del tubo de ensayo y en ella se les puede examinar con un microscopio de baja potencia. En el caso de muchos virus, la proliferación del agente sigue un curso paralelo a la degeneración de las células (fig. 47-1). Algunos virus generan un efecto citopático característico (CPE, *characteristic cytopathic effect*), y de este modo, permiten hacer un diagnóstico provisional rápido, cuando se conoce el síndrome clínico. Por ejemplo, el virus sincicial respiratorio genera de modo característico células gigantes multinucleadas, en tanto que los adenovirus producen cúmulos similares a los de racimos de uvas, de grandes células redondas. Algunos virus (como el de rubéola) no producen efectos citopáticos directos, pero se les detecta al interferir en CPE de un segundo virus estimulante (interferencia viral). Los virus de influenza y algunos paramixovirus pueden detectarse en un plazo de 24 a 48 h si se agregan eritrocitos a los cultivos infectados. Los virus que maduran en la membrana celular producen una hemaglutinina que permite a los eritrocitos adsorberse en la superficie celular (hemadsorción). Es posible identificar la identidad del virus aislado con un antisuero con especificidad de tipo que inhibe la proliferación del virus o que reacciona con sus antígenos.

Algunos virus pueden proliferar en cultivo, pero se trata de un proceso muy lento y difícil. Para diagnosticar las infecciones de ese tipo se recurre a otros estudios en vez del cultivo (véase adelante).





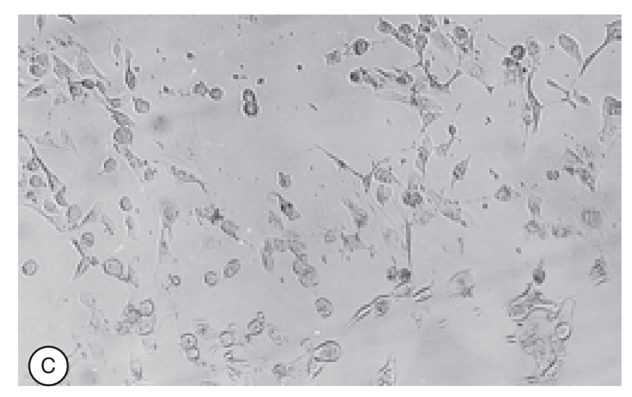


FIGURA 47-1 **A:** Monocapa de células renales normales no teñidas de mono, en cultivo (120×). **B:** Cultivo de células renales de mono no teñidas, en que se observa la fase inicial de los efectos citopáticos que son típicos de la infección por enterovirus (120×). En promedio, 25% de las células en el cultivo presentan los efectos citopáticos que denotan multiplicación del virus (efectos citopáticos, 1+). **C:** Cultivo de células renales no teñidas de mono en que se observa el efecto citopático de enterovirus en fase más avanzada (efectos citopáticos 3+ a 4+) (120×). Se observa que casi 100% de las células están afectadas y gran parte de la capa celular se ha desprendido de la pared y el tubo de cultivo.

CUADRO 47-5 Infecciones por virus: agentes, muestras y métodos diagnósticos

Síndrome y virus	Muestra	Sistema de detección	Comentarios
Enfermedades de vías respiratorias			
Virus de influenza	Material de lavado nasofaríngeo u obtenido con aplicador, esputo, muestras de vías respiratorias obtenidas en forma invasiva	Cultivo celular (PMK, MDCK), huevos embrionados, FA directo, EIA, amplificación de ácido nucleico	El virus se detecta por hemadsorción de eritrocitos de cobayo, en dos a cuatro días. Se utilizan HI o IF para identificar el virus; se puede contar con métodos de amplificación de ácido nucleico en laboratorios especializados y de salud pública
Virus de parainfluenza	Material de lavado nasofaríngeo u obtenido con aplicador; esputo	Cultivo celular (PMK, LLC-MK2), FA directa, amplificación de ácido nucleico	El virus se detecta por hemadsorción de eritrocitos de cobayo en un lapso de cuatro a siete días. Se utilizan HI, IF y HAI para identificar el virus
Virus sincicial respiratorio	Material de lavado nasofaríngeo	Cultivo celular (HEL, HeLa, HEp-2), FA directo, amplificación de ácido nucleico	Por lo común se vuelve visible el CPE en un lapso de uno a siete días. Se detecta el antígeno por EIA
Adenovirus	Material de lavado nasofaríngeo u obtenido con aplicador; heces; material conjuntival obtenido por aplicador	Cultivo celular (HEp-2 HEK), FA directa; amplificación de ácido nucleico; EIA en el caso de adenovirus entéricos	Es posible identificar CPE en un lapso de tres a siete días. Se utiliza IF para identificar el virus
Rinovirus	Material de lavado nasofaríngeo u obtenido con aplicador	Cultivo celular (HEL), amplificación de ácido nucleico	
Enterovirus	Material de lavado nasofaríngeo u obtenido con aplicador, heces	Cultivo celular (PMK, HEL), amplificación de ácido nucleico	Rara vez prolifera el virus Coxsackie A en cultivo tisular; se prefieren los métodos de amplificación de ácido nucleico en el caso de infecciones del sistema nervioso central
Enfermedades febriles			
Dengue y cuadros causados por otros arbovirus	Muestras de suero, LCR, o de necropsia; vector (mosquito *Aedes*)	Ratones en fase de amamantamiento (mamantones); cultivo celular (Vero)	Muchos virus de este grupo son muy infecciosos y se pueden transmitir con facilidad al personal de laboratorio. En el caso de algunos habrá que estudiarlos en laboratorios con medios de autoconfinamiento y acceso controlado. Usar estudios serológicos
Fiebres hemorrágicas			
Consultar el capítulo 38	Suero, sangre	Ratones lactantes, cultivo celular (Vero)	Consúltense los comentarios en el apartado de enfermedades febriles
LCM			
Virus de LCM	Sangre, LCR	Cultivo celular (Vero, BHK), ratones lactantes	IF y neutralización en ratones, para identificar el virus
Fiebre de Lassa			
Virus de Lassa	Sangre, material nasofaríngeo obtenido por aplicador, exudado	Cultivo celular (Vero, BHK)	El aislamiento del virus Lassa se practica sólo en laboratorio o medios autocontenidos y acceso controlado
Encefalitis			
Arbovirus	Suero, LCR, material nasofaríngeo obtenido por aplicador	Ratones lactantes, cultivo celular (Vero)	Consúltense comentarios sobre enfermedades febriles
Enterovirus	Heces, exudado faríngeo obtenido por aplicador, LCR	Cultivo celular (PMK, HEL); métodos de amplificación de ácido nucleico	
Virus de la rabia	Saliva, biopsia de cerebro o de piel (nuca)	Ratones lactantes, IF directa	Es preferible IF directa porque es importante el diagnóstico a muy breve plazo para emprender el tratamiento eficaz
Herpesvirus	LCR	PCR	

Meningitis			
Enterovirus	LCR	Cultivo celular (PMK, HEL), se prefieren las pruebas de amplificación de ácido nucleico	
Virus de parotiditis	LCR, material nasofaríngeo obtenido por aplicador, orina	Cultivo celular (PMK)	El virus se detecta por hemadsorción de eritrocitos de cobayo en término de cuatro a siete días. Se utilizan HAI e IF para identificar el virus en cultivo. La PCR se practica en laboratorios de salud pública
Mononucleosis infecciosa			
Virus de Epstein-Barr (EB)	Sangre, material nasofaríngeo obtenido por aplicador	Cultivo de células linfoides (PCR; métodos serológicos)	No se practica sistemáticamente el cultivo del virus EB en laboratorios de virología clínica
Virus citomegálicos	Sangre, orina, exudado faríngeo obtenido por aplicador	Cultivo celular (HFF); método de centrifugación y cultivo para el diagnóstico temprano del virus citomegálico, detección de antígeno por PCR	Es importante conservar durante cuatro semanas los tubos del cultivo tisular; el método de centrifugación y cultivo se practica en 24 h con tinción temprana de antígeno por medio de DFA
Hepatitis (consúltese el cap. 37 para conocer las pruebas disponibles e indicadas)			
Virus de hepatitis A	Suero, heces	IEM, EIA, RT-PCR	
Virus de hepatitis B	Suero	EIA, PCR	
Virus de hepatitis C	Suero	EIA, PCR	
Virus de hepatitis D	Suero	EIA	
Enteritis			
Rotavirus	Heces	EIA	
Agente Norwalk, calicivirus, astrovirus	Heces	IEM	
Exantemas			
Virus de varicela-zoster	Líquido de vesículas	Cultivo celular (HEK). El método de anticuerpos fluorescentes directos es el más sensible	Por lo común se identifica CPE en cuatro días a dos semanas
Virus de sarampión	Material nasofaríngeo obtenido por aplicador, sangre, orina	Cultivo celular (PMK, HEK), anticuerpos fluorescentes directos	Por lo común se identifica CPE en término de dos a tres semanas; estudios serológicos
Virus de rubéola	Material nasofaríngeo obtenido por aplicador, sangre, orina	Cultivo celular (AGMK, Vero)	Estudios serológicos
Virus de viruela del mono, de ordeñadores, vaccinia, y tana	Líquido de vesículas	Huevos embrionados, microscopia electrónica	Los métodos se realizan únicamente en laboratorios de salud pública
Virus de herpes simple	Vesículas por lo común de la boca o genitales	Cultivo celular (HFF, Vero); PCR	Los cultivos por lo común se tornan positivos en término de 24 a 72 h; la IF directa es rápida
Parvovirus	Sangre	Estudios serológicos, PCR	
Parotiditis			
Virus de parotiditis	Material nasofaríngeo obtenido por aplicador, orina	Cultivo celular (PMK)	Consúltense los comentarios sobre meningitis en párrafos anteriores; estudios serológicos

(*continúa*)

CUADRO 47-5 Infecciones por virus: agentes, muestras y métodos diagnósticos (*Continuación*)

Síndrome y virus	Muestra	Sistema de detección	Comentarios
Anomalías congénitas			
Virus citomegálico	Orina, exudado faríngeo obtenido por aplicador	Consúltese Mononucleosis infecciosa, en párrafos anteriores	
Rubéola	Exudado faríngeo obtenido por aplicador, LCR, sangre	Consúltese la sección Exantemas	Estudios serológicos
Conjuntivitis			
Herpes simple	Material conjuntival obtenido con aplicador, lágrimas	Consúltese el apartado Exantemas	
Herpes zóster			
Adenovirus		Consúltese Enfermedades de vías respiratorias, en párrafos anteriores	
Enterovirus			
SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida)			
Virus de inmunodeficiencia humana	Sangre, particularmente leucocitos	PBC del paciente en cultivo celular (no se practica en muchos laboratorios clínicos)	Detección de anticuerpos por EIA, confirmado por inmunotransferencia. Casi siempre se detecta el virus por PBC, incluso si han surgido anticuerpos séricos; RT-PCR
Infección por papovavirus			
Papovavirus humano JC	Muestras de cerebro, orina y tejidos	Cultivo celular (HFF), EM	
Papovavirus humano DK		Amplificación de ácido nucleico	
Virus de papiloma	Material de biopsia, verrugas	DNA, IF	La hibridación de DNA se realiza en el líquido de las extensiones de Papanicolaou

AGMK, riñón de mono africano verde; BHK, riñón de criceto bebé; CF, fijación de complemento; CPE, defecto citopático; EIA, enzimoinmunoanálisis; FA, anticuerpos fluorescentes; HAI, inhibición de la hemadsorción; HEK, riñón de embrión humano; HEL, pulmón de embrión humano; HeLa, línea de células epiteliales humanas; HEp-2, células epiteliales humanas de tipo 2; HFF, fibroblastos de prepucio humano; HI, inhibición de la hemaglutinación; IEM, microscopia inmunoelectrónica; IF, anticuerpo inmunofluorescente; LLC-MK2, línea celular de riñón de mono; LCM, coriomeningitis linfocítica; MDCK, línea celular de riñón de perro; PBC, eritrocitos de sangre periférica; PCR, reacción en cadena de la polimerasa; PMK, riñón primario de mono; RIA, radioinmunoanálisis; RT-PCR, reacción en cadena de polimerasa/transcriptasa inversa; Vero, línea celular de riñón de mono.

[a]Para el diagnóstico se utilizan diversas pruebas que usan sueros del enfermo y antígenos virales conocidos. Se emplean métodos similares que incorporan el virus aislado del paciente y antisueros conocidos, para identificar el agente infectante. Los métodos en cuestión incluyen neutralización de la replicación viral (inhibición del efecto citopático), fijación de complemento y otros incluidos en el pie de cuadro.

C. Método de centrifugación y cultivo para el diagnóstico temprano del virus citomegálico

El método en cuestión permite la detección rápida de virus en muestras clínicas; se le ha adaptado para la identificación de algunos virus como el citomegálico (CMV) y el de varicela-zoster. Por ejemplo, es posible detectar el CMV en término de 18 a 24 h, en comparación con las dos a cuatro semanas que eran necesarias con el clásico cultivo celular; son similares las sensibilidades del método de centrifugación y cultivo, y el cultivo clásico en busca de citomegalovirus. Se obtienen monocapas de la línea celular adecuada por proliferación (p. ej., células MRC-5 para *Medical Research Council*-5) son crecidas en cubreobjetos en viales de 15 × 45 mm. Después de inoculación con la muestra las viales se centrifugan a 700 × *g* durante 40 min a temperatura ambiental; se incuban a 37°C durante 16 a 24 h, se fijan y se intenta la reacción con un anticuerpo monoclonal que sea específico para una proteína nuclear de CMV, que está presente desde fase muy temprana en el cultivo; en el comercio se cuenta con algunos anticuerpos de ese tipo. Se recurre a los métodos de tinción directa o indirecta de anticuerpos y microscopia por fluorescencia para identificar la positividad de los cultivos con esta técnica. Se deben incluir testigos positivos y negativos en cada ensayo. Se ha creado una modificación de esta técnica para la recuperación y la detección simultánea de múltiples virus de vías respiratorias que utilizan células R-Mix. Dicho método se puede obtener de la compañía comercial Diagnostic Hybrids, Inc. Athens, Ohio. Una vial contiene mezcla de dos líneas celulares como el carcinoma humano de pulmón A549 y los fibroblastos del pulmón del visón Mv1Lu. De forma típica, el personal de laboratorio inocula a dos viales de ese tipo. Después de incubación durante 18 a 24 h se tiñe el material de una vial por medio de un reactivo de anticuerpos fluorescentes "de varios donadores" que detecta todos los virus comunes de vías respiratorias. Si la tinción es positiva, como paso siguiente, de las células en el cubreobjetos de la segunda vial, el técnico raspará, inoculará en una laminilla del octavo cuenco, y después teñirá con reactivos de anticuerpo monoclonal individual que detectan el virus específico. No se obtienen muestras del microorganismo por medio de la técnica de centrifugación y cultivo. Si se necesitan gérmenes para estudios de susceptibilidad para antivirales habrá que recurrir a la clásica técnica de cultivo celular.

Detección de antígeno

La detección de antígenos virales se utiliza ampliamente en la virología diagnóstica. Se pueden obtener equipos comerciales para detectar innumerables virus, incluidos el del herpes simple I y II, influenza A y B, virus sincicial respiratorio, adenovirus, virus de parainfluenza, rotavirus y citomegálico. También se cuenta con múltiples métodos cuantitativos: EIA, anticuerpos fluorescentes directos o indirectos, aglutinación de látex y otros más. Entre las ventajas de tales procedimientos está que permiten detectar virus que no proliferan fácilmente en cultivo celular (como los rotavirus o el virus de hepatitis A), u otros de proliferación muy lenta (como el virus citomegálico). En términos generales, las técnicas de detección de antígenos de virus son menos sensibles que el cultivo viral y los métodos de amplificación de ácido nucleico.

Amplificación de ácido nucleico y detección

Se cuenta con muy diversas técnicas comerciales cuantitativas para detectar ácido nucleico de virus o para amplificarlo e identificarlo. Los métodos en cuestión rápidamente se han tornado las técnicas normativas en virología diagnóstica y han sustituido a las técnicas tradicionales de cultivo de virus y detección de antígeno. Los métodos incluyen reacción en cadena de polimerasa (PCR); PCR-transcriptasa inversa y otros métodos patentados. Los procedimientos en cuestión permiten detectar virus (como los enterovirus y otros más) y cuantificarlos (como VIH-1, citomegalovirus, de Epstein-Barr, de hepatitis B, C y VIH). Se utilizan datos de técnicas cuantitativas para orientar en la terapia antiviral en el caso de enfermedades por virus múltiple. Un ejemplo adecuado sería VIH/síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

Hibridación de ácidos nucleicos

La técnica mencionada, que se usa para detectar virus, es muy sensible y específica. La muestra se distribuye en gotas pequeñas en una membrana de nitrocelulosa y se logra la fijación del ácido nucleico viral que está en la muestra problema; después se desnaturaliza con álcali *in situ*, se obtiene la hibridación con un fragmento del ácido nucleico del virus marcado y se detectan los productos de la hibridación. En el caso del rotavirus que contiene RNA bicatenario, el método de hibridación es más sensible que el enzimoinmunoanálisis. El RNA en muestras de heces desnaturalizadas por calor que contienen el rotavirus, se inmoviliza siguiendo los pasos anteriores y se emprende la hibridación *in situ* con sondas monocatenarias marcadas obtenidas por la transcripción *in vitro* del rotavirus.

Medición de la respuesta inmunitaria a la infección por virus

De manera típica, una infección por virus desencadena respuestas inmunitarias dirigidas contra uno o más de los antígenos de la partícula. Por lo regular surgen las dos respuestas inmunitarias, de tipo celular y humoral, y cabe medir una u otra para diagnosticar la infección por virus. La inmunidad de tipo celular se puede valorar por la técnica de hipersensibilidad dérmica, transformación de linfocitos y citotoxicidad. Las respuestas inmunitarias humorales asumen enorme importancia diagnóstica. En el comienzo aparecen los anticuerpos de la clase IgM y surgen después los anticuerpos de tipo IgG. Los anticuerpos IgM desaparecen en cuestión de semanas, en tanto que los de tipo IgG persisten años. La confirmación del diagnóstico de una infección por virus se logra por métodos serológicos, al demostrar el incremento en el título de anticuerpo contra el virus o al conformar la presencia de anticuerpos de la clase IgM contra el virus (cap. 8). Los métodos utilizados comprenden la prueba de neutralización (Nt), inhibición de la hemaglutinación (HI, *hemagglutination inhibition*) y las pruebas de inmunofluorescencia, hemaglutinación pasiva e inmunodifusión.

La medición de anticuerpos por métodos diferentes no genera necesariamente resultados en paralelo o equivalentes. Los anticuerpos detectados por fijación de complemento están presentes durante una infección por enterovirus y en el periodo de convalecencia, pero no persisten. Los anticuerpos detectados por neutralización también aparecen durante la infección y persisten mu-

chos años. La evaluación de los anticuerpos por diversos métodos en sujetos o en grupos de ellos aporta información diagnóstica y datos de las características epidemiológicas de la enfermedad.

Los métodos serológicos para el diagnóstico viral brindan mayor utilidad cuando el virus tiene un largo periodo de incubación antes de que aparezcan las manifestaciones clínicas. Una lista parcial de las partículas en cuestión incluyen los virus de Epstein-Barr, los de hepatitis y el virus de inmunodeficiencia humana. De forma típica, la identificación de los anticuerpos contra los virus en cuestión constituye la primera medida que se hace en el diagnóstico y más adelante se practica la amplificación de ácido nucleico, para evaluar los niveles del virus circulante, como una estimación del nivel de infección, la respuesta a terapias antivirales específicas o de ambos factores. Otra utilidad importante de los métodos serológicos es evaluar la vulnerabilidad de la persona o la exposición previa a un virus y la posibilidad de que se reactive en el contexto de inmunodepresión o de trasplante de un órgano.

Microscopia inmunoelectrónica

Los virus que no se detectan por las técnicas corrientes pueden observarse en la microscopia inmunoelectrónica (IEM, *immune electron microscopy*). Los complejos de antígeno-anticuerpo o los agregados formados entre las partículas de virus en suspensión, son causados por la presencia de anticuerpos en el antisuero adicionado y se detectan con mayor facilidad y seguridad que las partículas virales individuales. IEM se utiliza para detectar virus que causan enteritis y diarrea y que por lo común no pueden ser cultivados en los medios corrientes para virus. El rotavirus se detecta por medio de enzimoinmunoanálisis.

Virus de inmunodeficiencia humana (VIH)

El VIH-1 aparece a nivel mundial, en tanto que el VIH-2 ataca principalmente zonas de África Occidental y otras áreas geográficas más. La infección por VIH constituye un caso especial dentro de la virología diagnóstica. Es importante definir con exactitud el diagnóstico por medio de laboratorio, de modo que no exista posibilidad de un resultado positivo falso, o sea mínima. Una vez corroborado el diagnóstico se utilizan las pruebas de laboratorio para vigilar la evolución de la infección y evaluar de manera seriada la eficacia del tratamiento. Los bancos de sangre usan métodos muy sensibles para detectar VIH-1 en sangre donada, y de este modo evitar cualquier infección por la partícula, transmitida por transfusión.

El conocimiento de los métodos diagnósticos de VIH y los utilizados para vigilar la infección obliga a conocer la estructura y la replicación del VIH y también la respuesta inmunitaria a la infección. En este capítulo se hará un resumen somero de los temas mencionados y en el capítulo 44 se expone con mayor detalle lo referente al virus de inmunodeficiencia humana.

Los VIH-1 y VIH-2 son retrovirus. Poseen cubierta y también una sola hebra codificante de ácido ribonucleico. Por medio de la enzima viral transcriptasa inversa, el RNA es transcrito en el DNA e integrado en el genoma de la célula hospedadora. La proteína viral que más a menudo es cuantificada de manera directa es p24. Pueden surgir anticuerpos reactivos contra otros productos del gen VIH: productos *env;* glucoproteína (gp) 160 (gp160, gp120, gp41); *gag,* p24, p17, p9, p7 y *pol,* p66, p51, p32, p11.

Dos a seis semanas después de la infección, la mitad o más de los pacientes terminan por mostrar un síndrome infeccioso similar a la mononucleosis. Para esa fecha se observan grandes niveles de VIH-1 en la sangre que se detectan por cultivo o por PCR de la transcriptasa inversa. Los anticuerpos contra las proteínas de VIH-1 se pueden detectar dos a ocho semanas después de la infección. Surge una respuesta a base de IgM contra los productos del gen *gag*, que poco a poco cambia hasta tornarse una respuesta a base de IgG. Por lo común inicialmente aparecen las respuestas a base de IgG contra p24 y gp120, y después aparecen respuestas a gp41 y otras proteínas. En la respuesta de anticuerpos disminuyen los niveles de p24 y la viremia y tal vez no se detecten durante el periodo asintomático de la infección, en tanto que los niveles del anticuerpo p24 permanecen elevados. A finales de la evolución del trastorno disminuyen los niveles del anticuerpo p24, en tanto que aumentan los del antígeno p24. En el lapso que sigue inmediatamente a la infección en que hay grandes niveles de viremia a base de VIH-1, disminuye el número de linfocitos T CD4. En los comienzos del periodo asintomático tal número se normaliza sólo para disminuir poco a poco con el paso del tiempo y con mayor rapidez en las etapas ulteriores y tardías del síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

Las pruebas utilizadas para diagnosticar la infección por VIH-1 se pueden obtener en el comercio, y muestran un enorme refinamiento y están estandarizadas. Se pueden conseguir algunos "equipos" para el mismo tipo de pruebas. Más adelante se señalan en forma genérica.

Métodos para evaluar anticuerpos contra VIH

A. Enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assay*) (*enzyme immunoassay*)

ELISA (o EIA) es una de las pruebas primarias de cribado para el diagnóstico de la infección por VIH-1; por lo común, los antígenos de VIH-1 son inmovilizados en una superficie sólida, por lo regular cuencos o cuentas de plástico. A ellas se agregan el suero del enfermo y los reactivos apropiados. Los anticuerpos contra VIH-1 fijados a los antígenos inmovilizados de dicho virus se detectan con IgG antihumana marcada con enzimas y una reacción colorimétrica. El grado del color es proporcionalmente mayor si lo son las concentraciones de anticuerpos contra VIH-1. Se considera como positiva la prueba si el color rebasa un nivel prefijado (punto de corte). El ELISA para VIH-1 tiene una sensibilidad y una especificidad mayores de 99 por ciento. Los neonatos hijos de madres infectadas con VIH-1 por lo común muestran positividad de ELISA y otras pruebas de este tipo para VIH-1, por la transferencia transplacentaria de anticuerpos. Si el pequeño no está realmente infectado por VIH-1 el método poco a poco arrojará resultados negativos. La necesidad de detectar de manera rápida a personas que pudieran ser VIH-positivas y emprender tal medida en tanto aún están dentro de un entorno clínico, ha ocasionado que se busquen algunas mejorías en las pruebas de tipo enzimoinmunoanalítico. Se ha creado un método para someter a prueba las secreciones de la boca. Además han sido aprobados en diversos países métodos de inmunoanálisis rápido para utilizar con sangre completa y suero. Todos los métodos rápidos deben ser tratados en la misma forma como se hacen las técnicas corrientes. Los resultados positivos deben ser confirmados por la prueba de inmunotransferencia (Western) y habrá que repetir la prueba si está indicada clínicamente en el

caso de que sea negativa en una persona en quien se sospeche firmemente el problema, sobre bases clínicas.

B. Inmunotransferencia (Western)

Método que se utiliza como una forma de medir los anticuerpos específicos contra VIH-1, para confirmar la positividad del enzimoinmunoanálisis de adsorción. En el método de inmunotransferencia Western se separan electroforéticamente las proteínas de VIH-1 sobre una tira de nitrocelulosa. La tira es incubada con el suero del paciente. Más adelante se detectan anticuerpos específicos contra VIH-1 y para ello se utiliza IgG antihumana, ligada a enzima. Una reacción colorimétrica positiva forma bandas en el papel de nitrocelulosa y corresponde a la posición de los antígenos específicos de VIH-1. El criterio para calificar de positiva una prueba incluye cualquiera de las dos bandas que corresponden a p24, gp41, y gp120/160. Se considera como un resultado negativo la ausencia de bandas, en tanto que la presencia de bandas que no cumplen con los criterios de una prueba positiva se califica como resultado indeterminado. Pocas veces (relativamente) surgen resultados positivos y negativos falsos. En el caso de sujetos con ELISA positivos y un resultado indeterminado de inmunotransferencia, se necesita repetir las pruebas y la evaluación clínica. El neonato hijo de una madre infectada con VIH-1 puede generar un resultado de inmunotransferencia positivo, pero poco a poco se tornará negativo si no hubo una verdadera infección del pequeño con VIH-1.

Métodos para la detección directa de la infección por VIH

A. Detección del antígeno p24

ELISA se utiliza para detectar el antígeno p24. Los anticuerpos contra dicho antígeno se inmovilizan en una superficie sólida y se incuban con el suero del paciente. La cantidad de p24 se detecta por medio de IgG contra VIH-1 (con participación de enzimas), y una reacción colorimétrica. El antígeno en cuestión es detectable durante la fase virémica aguda de la infección y en las etapas tardías de síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Un porcentaje pequeñísimo de personas asintomáticas con la infección por VIH-1 muestran el antígeno p24 (resultado positivo).

B. Detección de RNA de VIH-1

Se dispone de diversos métodos comerciales para detectar y cuantificar el RNA de VIH-1; incluyen PCR, amplificación basada en la secuencia de ácidos nucleicos (NASBA, *nucleic acid sequence-based amplification*) y métodos a base de bDNA para detección y cuantificación del virus mencionado (consúltese la sección Diagnóstico molecular en apartados anteriores). Las cuantificaciones en cuestión pueden utilizarse para detectar infección por VIH-1 antes del momento que sigue a la infección, en que adquieren carácter positivo los métodos para identificar anticuerpos. También se utilizan para vigilar la eficacia de la terapia contra VIH-1.

C. Detección de DNA proviral de VIH-1

En esta técnica se extrae el DNA de mononucleares obtenidos de sangre periférica con anticoagulante. Se utilizan en la técnica PCR cebadores oligonucleotídicos que son específicos para los segmentos del DNA proviral integrado de VIH-1 (consúltese la sección Diagnóstico molecular en apartados anteriores). Esta técnica se puede utilizar en el caso de un pequeño con positividad de anticuerpos, hijo de una madre infectada por VIH-1 para saber si también él tiene la infección; constituye el método preferido para el niño que tiene menos de 18 meses de vida.

D. Cultivo de VIH-1

El primer método creado para diagnosticar la infección de VIH-1 fue el cultivo tisular y se ha utilizado para definir que tal virus es la causa del síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Se hace cultivo simultáneo de mononucleares de sangre periférica de un sujeto posiblemente infectado, con los mononucleares de la misma fuente de un sujeto no infectado, que han sido estimulados con fitohemaglutinina e interleucina-2. Se pasa por un periodo de observación en los cultivos, para detectar la formación de células gigantes multinucleadas, actividad de transcriptasa inversa de VIH-1 o la producción del antígeno p24 de dicha partícula viral. También se pueden practicar los cultivos celular y plasmático cuantitativo. El cultivo de VIH-1 tiene una sensibilidad de 95 a 99%; es una técnica lenta y cara y no tiene eficacia proporcional con su costo para usarla en la práctica corriente.

Vigilancia seriada del número de células T CD4

El recuento del número absoluto de las células T CD4 se utiliza ampliamente para vigilar el estado de sujetos con infecciones por VIH-1. El recuento por lo común se practica en células de sangre completa teñida con anticuerpos contra CD4 y marcada con un colorante fluorescente. Como paso siguiente se logra la lisis de los eritrocitos y se cuentan las células CD4 por medio de citometría de flujo.

Métodos pronósticos y vigilancia del tratamiento

Una carga viral alta en el cuerpo del paciente es reflejo de los altos niveles de RNA de VIH-1 y conlleva un mal pronóstico. De forma similar, el pequeño número de células T CD4 denota peligro de que surja una infección por oportunistas y también anticipa un pronóstico insatisfactorio. El número de virus y de células T CD4 se utiliza para vigilar de manera seriada la eficacia de los antirretrovirales.

Las técnicas de genotipificación utilizan PCR de transcriptasa inversa para amplificar el RNA de VIH-1 que codifica enzimas virales, que serían las que afectarían los antirretrovirales. El análisis de las secuencias amplificadas permite conocer las mutaciones que codifican la resistencia a los fármacos; los métodos de evaluación de resistencia son recomendables en caso de que sean ineficaces el primero o múltiples regímenes, o en caso de embarazo.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Mujer de 47 años a quien se injertó médula ósea como parte del tratamiento de su leucemia mielógena crónica. En su estancia en el hospital tuvo colocado un catéter en una vena central, para la administración de soluciones. En el lapso que siguió al trasplante, pero antes de que éste fuera aceptado, el número de leucocitos de la paciente era muy pequeño. Mostró fiebre y se realizaron cultivos

de sangre. De las situaciones siguientes, ¿cuál sugiere que la positividad de los cultivos de sangre fue consecuencia de la participación de un contaminante?

(A) Dos cultivos positivos en sangre venosa periférica, con la presencia de *Staphylococcus aureus*
(B) Dos cultivos positivos en sangre venosa periférica, con participación de *Staphylococcus epidermidis*, positividad de dos cultivos de sangre del catéter central y presencia de *Staphylococcus epidermidis*
(C) Positividad de un cultivo de sangre venosa periférica y otro de sangre del catéter en vena central, con presencia de *Escherichia coli*
(D) Positividad de un cultivo en la sangre del catéter en la vena central, con presencia de una especie de *Corynebacterium* y dos cultivos negativos en sangre venosa periférica
(E) Dos cultivos positivos de sangre del catéter en vena central, con la presencia de *Candida albicans*

2. Hace dos días un joven de 22 años volvió de un viaje de dos semanas a México. En término de 24 h presentó diarrea. De los siguientes métodos, ¿cuál no corroborará la causa de la diarrea?

(A) Cultivo de heces en busca de *Salmonella*, *Shigella* y *Campylobacter*
(B) Cultivo de heces en busca de rotavirus y virus similar al de Norwalk
(C) Enzimoinmunoanálisis de heces en busca de antígeno de *Giardia lamblia*
(D) Estudio de heces en busca de *Entamoeba histolytica*

3. Un varón de 37 años viajó al Perú durante una epidemia de cólera. Días después de volver a su hogar mostró diarrea acuosa intensa. Para mejorar la identificación de *Vibrio cholerae* de sus heces, es necesario incluir, entre las pruebas de laboratorio

(A) Agar de MacConkey
(B) Agar sangre para *Campylobacter*
(C) Agar sacarosa con sales biliares y citrato-tiosulfato
(D) Agar con sulfuro de bismuto
(E) Agar de Hektoen

4. Desde algún tiempo se ha sabido que un varón de 42 años tiene VIH/síndrome de inmunodeficiencia adquirida. De las técnicas siguientes, ¿cuál es la más adecuada para evaluar la evolución de su terapia antirretroviral altamente activa (HAART)?

(A) Cuantificación del número de virus (carga)
(B) Medir en forma seriada los niveles de anticuerpos contra VIH-1
(C) Utilizar inmunotransferencia para evaluar los niveles de antígeno contra p24
(D) Repetir el cultivo de sangre en busca de VIH-1 para identificar el momento en que el cultivo se tornó negativo
(E) Emprender genotipado de VIH-1 identificado para conocer su susceptibilidad a los antirretrovirus

5. Un niño de dos años presenta diarrea. Se sospecha infección por rotavirus. De los siguientes métodos, ¿cuál es el más útil para diagnosticar la infección por esa partícula?

(A) Tinción de la muestra de heces con anticuerpos fluorescentes
(B) Microscopia corriente para detectar células de mucosa con efecto citopático
(C) Detección del antígeno viral en heces por el método de enzimoinmunoanálisis
(D) Cultivo de virus

6. De las técnicas siguientes, ¿cuál es la adecuada para corroborar el diagnóstico etiológico de infección?

(A) Cultivo e identificación del agente
(B) Hibridación DNA-DNA o DNA-RNA para detectar genes específicos de patógenos en las muestras de los pacientes
(C) Demostración de una respuesta inmunitaria mediada por anticuerpos o células, significativa, contra un agente infeccioso
(D) Identificación morfológica del agente en tinciones de muestras o cortes de tejidos por microscopia corriente o electrónica
(E) Detección de antígeno del agente por un método inmunológico
(F) Todas las anteriores

7. Una mujer de 45 años es hospitalizada a causa de fiebre, pérdida ponderal de 6 kg y un nuevo soplo cardiaco. Se diagnostica probable endocarditis. ¿Qué número de cultivos de sangre y en qué periodo deben realizarse para aportar pruebas de una infección bacteriana específica en la endocarditis?

(A) Una
(B) Dos en un lapso de 10 min
(C) Tres en un lapso de 2 h
(D) Tres en un lapso de 24 h
(E) Seis en un lapso de tres días

8. Un niño de 4 años muestra diarrea sanguinolenta, y se sospecha la presencia de colitis hemorrágica por *Escherichia coli* O157:H7. ¿Qué medio de laboratorio debe ser inoculado para que el personal diagnostique dicha infección?

(A) Agar sangre
(B) Agar sorbitol de MacConkey
(C) Agar de Hektoen entérico
(D) Agar CIN (cefsulodina, irgasan, novobiocina)
(E) Agar sacarosa con sales biliares y citrato-tiosulfato

9. Un varón de 43 años de raza negra a menudo manejaba su camión de 18 ruedas por el valle central de California. Dos meses antes se enfrentó a una gran tormenta de arena mientras manejaba por dicho valle. Dos semanas después presentó fiebre con tos y un dolor pleurítico. En la radiografía de tórax se identificó un infiltrado. Se hizo el diagnóstico de neumonía y el paciente recibió eritromicina. En un lapso de tres semanas, desaparecieron la fiebre, la tos, el dolor pleurítico y el infiltrado. Dos semanas antes de la consulta presentó poco a poco cefalea intensa y en los últimos dos días, vómito. Su líquido cefalorraquídeo contiene 150 leucocitos/μl, de manera predominante linfocitos, y su concentración de glucosa es pequeña. Se sospecha meningitis por *Coccidioides immitis*. De las pruebas siguientes, ¿cuál es la más sensible y útil para confirmar el diagnóstico?

(A) Aglutinación de látex para detectar anticuerpos contra coccidioides, en líquido cefalorraquídeo
(B) Prueba de fijación de complemento en líquido cefalorraquídeo en busca de anticuerpos contra *Coccidioides immitis*
(C) Prueba de inmunodifusión de líquido cefalorraquídeo en busca de anticuerpos contra *Coccidioides immitis*
(D) Cultivo de líquido cefalorraquídeo en busca de *Coccidioides immitis*
(E) Prueba de fijación de complemento en el suero, en busca de anticuerpos contra *Coccidioides immitis*

10. Un paciente de cinco años que ha recibido un riñón en trasplante y que es tratado con ciclosporina, muestra un trastorno linfoproliferativo. De los virus siguientes, ¿cuál es el que muy probablemente causó el trastorno?

(A) Virus citomegálico
(B) Virus de herpes simple
(C) Virus coxsackie B
(D) Virus de hepatitis B
(E) Virus de Epstein-Barr

11. Todas las indicaciones siguientes son adecuadas para utilizar estudios serológicos en busca de virus, *excepto:*

(A) Como indicación de la susceptibilidad de la persona a una infección viral particular
(B) Para el diagnóstico cuando el virus tiene un largo periodo de incubación
(C) Con fines de cribado

(D) Para confirmar la presencia de una infección por virus
(E) Para vigilar la respuesta al tratamiento

12. En el mes de agosto un niño de dos años es llevado a los servicios clínicos, con un cuadro agudo que incluye fiebre, signos de cefalea, disminución de la agudeza mental y rigidez de cuello. En la exploración física se confirma la presencia de fiebre, la existencia de rigidez leve de la nuca y a pesar de estar irritable el pequeño y con somnolencia mediana, puede ser despertado e ingiere algunos líquidos. En los parámetros del líquido cefalorraquídeo se observa un nivel de proteínas de 60 μg/100 ml, nivel de glucosa de 40 μg/100 ml y un total de 200 leucocitos en que predominan los mononucleares. La causa más probable de la infección del menor es
(A) Bacterias
(B) Virus
(C) Protozoos
(D) Hongos
(E) Micobacterias

13. En el caso anterior, el método más útil para hacer el diagnóstico más rápido y definitivo del agente causal más probable es
(A) Un método para buscar el antígeno de *Streptococcus pneumoniae*
(B) Método de aglutinación de látex para buscar antígeno de criptococo
(C) Método de amplificación de ácido nucleico para detección de RNA del virus
(D) Cultivo de medios selectivos en combinación con el uso de una sonda (molecular) para confirmación
(E) Extensión del líquido cefalorraquídeo teñida con el método de Giemsa

14. Se prefiere el método de susceptibilidad con la técnica MIC a diferencia de la difusión en disco, en todos los tipos siguientes de infecciones, *salvo en*:
(A) Infecciones de vías urinarias
(B) Endocarditis
(C) Osteomielitis
(D) Bacteriemia en un enfermo neutropénico
(E) Meningitis bacteriana

15. La vaginosis bacteriana se diagnostica mejor por cualquiera de los métodos siguientes, *excepto por*:
(A) Medición de pH vaginal
(B) Detección de olor a pescado cuando la secreción se alcaliniza con hidróxido de potasio
(C) Cultivo bacteriano en busca de aerobios y anaerobios
(D) Estudio de una extensión teñida con método de Gram de "células características de la vaginosis"

Respuestas

1. D	5. D	9. B	13. C
2. B	6. F	10. E	14. A
3. C	7. D	11. E	15. C
4. A	8. B	12. B	

BIBLIOGRAFÍA

Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS (editors): *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*, 12th ed. ASM Press, Washington, DC, 2007.
Murray PR et al (editors): *Manual of Clinical Microbiology,* 9th ed. ASM Press, 2007.
Persing D et al (editors): *Molecular Microbiology: Diagnostic Principles and Practice*, 2nd edition, ASM Press, (*In Press*).
Winn W et al (editors): *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2006.



CAPÍTULO

48

Casos y correlaciones clínicas

El tratamiento de las enfermedades infecciosas exige la comprensión de las manifestaciones clínicas iniciales y el conocimiento de las características microbiológicas. El cuadro de presentación de muchas infecciones incluye innumerables signos y síntomas focales y generales, y los casos típicos sugieren fuertemente el diagnóstico, aunque la enfermedad pudo haber sido causada por microorganismos diferentes. El arte de la medicina se funda en la elaboración del diagnóstico clínico que más tarde será confirmado por datos de laboratorio. El capítulo presente incluye 19 casos y comentarios breves del diagnóstico diferencial y el tratamiento de las infecciones. Se presentan dos casos adicionales y dos brotes de enfermedades naturales, causadas por agentes que se han utilizado en la guerra biológica.

Conviene que el lector consulte los primeros capítulos de este texto en busca de datos definitorios de los microorganismos; también el capítulo 47, para recabar información sobre las pruebas microbiológicos diagnósticas y revise obras de medicina e infectología para obtener información más completa de las entidades clínicas. Una de esas obras es McPhee SF; Papadakis, MA (eds): *Current Medical Diagnosis & Treatment* , que se actualiza cada año.

SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

CASO 1: MENINGITIS

Una niña de tres años es llevada por sus padres a urgencias por presentar fiebre e inapetencia en las últimas 24 horas y dificultad para estar despierta, en las últimas dos horas. Los antecedentes de su desarrollo han sido normales desde su nacimiento; acudía a una guardería y mostró algunos episodios de supuestas infecciones virales similares a las de otros niños de la guardería. Sus vacunaciones estaban al corriente.

Cuadro clínico

La temperatura de la paciente era de 39.5°C, su pulso, de 130 latidos/minuto y mostraba 24 respiraciones por minuto. Su presión arterial era de 110/60 mmHg.

En la exploración física se observó que era una niña con desarrollo, nutrición, talla y peso normales, pero somnolienta. Al intentar la flexión pasiva del cuello, sus miembros pélvicos se flexionaron (signo de Brudzinski positivo que sugiere irritación de las meninges). El estudio oftalmoscópico no indicó la presencia de papiledema, y ello denotó que durante largo tiempo no había habido hipertensión intracraneal. Los demás datos de su exploración física fueron normales.

Datos de laboratorio

Minutos después de su llegada se extrajo sangre para practicar cultivos y otras pruebas de laboratorio y se colocó un catéter intravenoso. En menos de 30 min del ingreso a la sala de urgencias se practicó una punción lumbar. La presión de abertura fue de 350 mm de líquido cefalorraquídeo (LCR) (elevada). El líquido estaba turbio. Se llenaron varios tubos de LCR para cultivo, recuento celular y pruebas bioquímicas. Un tubo fue llevado inmediatamente a laboratorio para practicar tinción de Gram. Dicha técnica indicó la presencia de innumerables polimorfonucleares (PMN) con diplococos gramnegativos intracelulares que sugerían *Neisseria meningitidis* (cap. 20).

Los datos de la química sanguínea fueron normales y su valor de hematócrito también. El recuento de leucocitos fue de 25 000 células/μl (muy elevado) y 88% eran formas de PMN, y el número absoluto de tales células era de 22 000/μl (muy elevado), 6% de linfocitos y 6% de monocitos. En el LCR se detectaron 5 000 PMN/μl (cifra normal, 0 a 5 linfocitos/μl). La concentración de proteínas en LCR fue de 100 mg/100 ml (elevada) y el de glucosa, 15 mg/100 ml (disminución o hipoglucorraquia), datos compatibles con meningitis bacteriana. En los cultivos de sangre y líquido cefalorraquídeo se detectó la proliferación de *N. meningitidis* del serogrupo B.

Tratamiento

Por vía intravenosa se comenzó la administración de cefotaxima dentro de los primeros 35 a 40 minutos del ingreso de la paciente y también se le administró dexametasona. La paciente recibió el antibiótico durante 14 días y se recuperó sin secuelas manifiestas. Se planean estudios neurológicos y pruebas de audiometría adicionales para el futuro. Se administró rifampicina como profiláctico a los demás niños que acudían a la guardería.

Comentarios

Las manifestaciones clínicas de la meningitis bacteriana varían según la edad de los pacientes. En los niños de mayor edad y en los adultos, los signos y síntomas iniciales suelen incluir fiebre, cefalea, vómito, fotofobia, alteración del estado mental que varía desde la somnolencia hasta el coma, y signos neurológicos que van desde anormalidades de la función de los pares craneales, a convulsiones. Sin embargo, signos sutiles como fiebre y letargo son compatibles con la meningitis, en especial en los lactantes. Se considera que la inflamación es aguda si los signos y los síntomas duran menos de 24 h, y es subaguda cuando han estado presentes durante uno a siete días. Conviene practicar la punción lumbar y el estudio del líquido cefalorraquídeo siempre que surja alguna sospecha de meningitis.

La meningitis aguda suele ser causada por unas cuantas especies de bacterias (cuadro 48-1): estreptococos del serogrupo B de Lancefield (*Streptococcus agalactiae*) (cap. 14) y por *Escherichia coli* (cap. 15) en recién nacidos; *Haemophilus influenzae* (cap. 18) en niños no vacunados que tienen entre 4 y 6 meses y 6 años; *N. meningitidis* en niños y adultos jóvenes; y *Streptococcus pneumoniae* (cap. 14), ocasionalmente en niños, y con una incidencia cada vez mayor en personas en la etapa media de la vida y en los adultos. Otras especies de microorganismos causan meningitis con frecuencia mucho menor. *Listeria monocytogenes* (cap. 12) causa meningitis en pacientes inmunodeprimidos y en personas normales. La levadura *Cryptococcus neoformans* (cap. 45) es la causa más frecuente de meningitis en pacientes con sida y puede causar tal infección también en otros enfermos inmunodeprimidos y en personas normales. El comienzo de meningitis por *Listeria* o *Cryptococcus* puede ser agudo o insidioso. En sujetos con traumatismo craneoencefálico agudo y pacientes sometidos a neurocirugía la meningitis es causada por bacilos gramnegativos. *S. pneumoniae* se detecta en la meningitis recurrente en personas con fracturas de la base del cráneo. La infección por *Mycobacterium tuberculosis* (cap. 23) puede comenzar en forma lenta (crónica; >7 días) en personas inmunológicamente normales, pero el ritmo es más acelerado (forma subaguda) en individuos inmunodeprimidos, como los pacientes con sida. Las amebas de vida libre de la especie *Naegleria* (cap. 46) a veces causan meningitis en individuos con el antecedente de haber nadado recientemente en agua dulce tibia. Los virus (caps. 30, 33, 36) por lo común ocasionan meningitis menos grave que las bacterias. Los virus que más a menudo causan la enfermedad son los enterovirus (virus ECHO y de Coxsackie) y el de la parotiditis.

Para el diagnóstico de meningitis se necesita que el personal clínico sospeche fuertemente su presencia cuando observa los signos y los síntomas apropiados y además, practicar sin tardanza la punción lumbar y analizar el líquido cefalorraquídeo obtenido. Los signos en dicho líquido incluyen de manera típica cientos a miles de leucocitos por microlitro (PMN en el caso de meningitis bacteriana aguda y leucocitos en la meningitis tuberculosa y en la viral); glucosa <40 mg/100 ml o menos de 50% de la glucemia; y proteína de >100 mg/100 ml (cuadro 48-2). En la meningitis bacteriana, después de la citocentrifugación del LCR y de teñir su sedimento con técnica de Gram se identifican PMN y bacterias cuyas características morfológicas son congruentes con las especies que más adelante se cultivarán: *N. meningitidis*, diplococos gramnegativos intracelulares; *H. influenzae*, pequeños cocobacilos gramnegativos así como estreptococos del serogrupo B y neumococos, cocos grampositivos en pares y cadenas. Junto con los cultivos del LCR habrá que realizar hemocultivos.

Sin tratamiento la meningitis bacteriana aguda es mortal. La terapia inicial en lactantes <1 mes de edad suele consistir en agentes parenterales que son eficaces contra los patógenos señalados en el cuadro 48-1, que incluyen *L. monocytogenes.* Se recomiendan las combinaciones de ampicilina y cefotaxima o ceftriaxona, con la adición de gentamicina o ampicilina, en combinación con un aminoglucósido. En niños que tienen de 1 mes a 18 años de vida y en adultos >50 años de edad, los antibióticos recomendados son vancomicina, y una cefalosporina de tercera generación por la prevalencia de *S. pneumoniae* multirresisten-

CUADRO 48-1 Causas comunes de meningitis

Microorganismo	Grupo de edad	Comentarios	Capítulo
Estreptococo del serogrupo B *(S. agalactiae)*	Neonatos hasta niños de 3 meses	Incluso 25% de las gestantes tienen en su vagina estreptococos del serogrupo B, como portadoras. La profilaxis con ampicilina durante el parto de mujeres expuestas a gran riesgo (rotura prematura de membranas, fiebre, etc.) o de portadoras identificadas, disminuye la incidencia de la infección en los neonatos	14
Escherichia coli	Recién nacidos	Por lo común tienen el antígeno K1	15
Listeria monocytogenes	Recién nacidos; ancianos; niños y adultos inmunodeprimidos	Se le detecta en personas con deficiencias de la inmunidad celular	12
Haemophilus influenzae	Niños de seis meses a cinco años	El empleo amplio de vacunas disminuye enormemente la incidencia de meningitis por *H. influenzae* en niños	18
Neisseria meningitidis	Lactantes, niños de cinco años y adultos jóvenes	En zonas epidémicas y en casos de brotes se utilizaron vacunas de polisacáridos contra los serogrupos A, C, Y y W135	20
Streptococcus pneumoniae	Todos los grupos de edad y su máxima incidencia se observa en ancianos	Suele aparecer en casos de neumonía y también en otros como mastoiditis, sinusitis y fracturas de la base del cráneo	14
Cryptococcus neoformans	Pacientes con sida	Causa frecuente de meningitis en pacientes con sida	45

CUADRO 48-2 Signos típicos en el LCR, observados en algunas enfermedades del sistema nervioso central

Diagnóstico	Células (por μl)	Glucosa (mg/100 ml)	Proteínas (mg/100 ml)	Presión de abertura
Normal[a]	0 a 5 linfocitos	45 a 55	15 a 45	70 a 180 mm H_2O
Meningitis purulenta (bacteriana)[a]	200 a 20 000 PMN	Nivel bajo (<45)	Nivel alto (>50)	++++
Meningitis granulomatosa (por micobacterias u hongos)[b,c]	100 a 1 000 predominantemente linfocitos	Nivel bajo (<45)	Nivel alto (>50)	+++
Meningitis aséptica, viral o meningoencefalitis[c,d]	100 a 1 000 predominantemente linfocitos	Normal	Moderadamente alta (>50)	Normal o +
Meningitis por espiroquetas (sífilis, leptospirosis)[c]	25 a 2 000, predominantemente linfocitos	Normal o nivel bajo	Nivel alto (>50)	+
"Reacción de vecindad"[e]	Incremento variable	Normal	Normal o nivel alto	Variable

[a]Es importante considerar el nivel de glucosa en LCR en relación con la glucemia. En circunstancias normales el nivel de glucosa en LCR es 20 a 30 mg/100 ml menor que la glucemia o 50 a 70% del valor normal de esta última.

[b]Microorganismos en frotis o cultivo de LCR.

[c]Pueden predominar los PMN en fase temprana.

[d]Aislamiento de virus en fase temprana en LCR; aumento del título de anticuerpos en pares de muestras de suero.

[e]Puede observarse en mastoiditis, abscesos cerebrales, abscesos epidurales, sinusitis, trombosis séptica, tumor cerebral y el cultivo de LCR puede ser negativo.

te, informes de elevaciones de la MIC para la penicilina en los meningococos, y la prevalencia de la producción de lactamasa β en *H. influenzae.* Los adultos mayores de 50 años también son susceptibles al ataque por *L. monocytogenes* y por ello se recomienda agregar ampicilina al régimen correspondiente a los niños de mayor edad y a los adultos, tal como se señala en párrafos anteriores.

Los datos disponibles respaldan la administración de dexametasona complementaria 10 a 20 minutos antes de la primera dosis del antimicrobiano o en forma simultánea en niños con meningitis por *H. influenzae* y en el adulto con meningitis neumocócica, y continuar la administración de esteroides en los primeros 2 a 4 días del tratamiento.

Se cuenta con varias vacunas y es recomendable su uso para evitar las causas más graves de meningitis bacteriana. Parte de las series de vacunación sistemática para lactantes y niños de corta edad son la vacuna conjugada contra *H. influenzae* tipo B y vacuna conjugada heptavalente contra neumococo. Se recomienda utilizar la vacuna antineumocócica polisacárida 23-valente para evitar la enfermedad invasora por neumococos en algunos grupos de alto riesgo que tengan más de dos años de edad. En este grupo se incluyen ancianos, que tengan alguna enfermedad crónica primaria como las de tipo cardiovascular, diabetes mellitus, sujetos con enfermedades subyacentes crónicas como enfermedad cardiovascular, problemas pulmonares crónicos, fugas de LCR y asplenia, entre otras. Se recomienda en la actualidad aplicar una vacuna antimeningocócica tetravalente conjugada para todas las personas sanas de 11 a 19 años y de 20 a 55 años de edad que estén expuestas a algún peligro como viajar a áreas endémicas. En el caso de niños de 2 a 10 años de edad en riesgo de contraer la enfermedad, también se puede aplicar la vacuna conjugada. Para los adultos mayores de 55 años se recomienda usar la vacuna antimeningocócica polisacárida mientras se evalúa en dicho grupo de edad la vacuna conjugada.

REFERENCIAS

Chavez-Bueno S et al: Bacterial meningitis in children. Pediatr Clin North Am 2005;52:795.

Tunkel AR et al: Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. Clin Infect Dis 2004;39:1267.

Van de Beek D et al: Community acquired bacterial meningitis in adults. N Engl J Med 2006;354:44.

CASO 2: ABSCESO CEREBRAL

Un varón de 57 años se presentó en el hospital con convulsiones. Tres semanas antes había mostrado cefaleas bifrontales que se aliviaron con ácido acetilsalicílico. Los dolores de cabeza reaparecieron varias veces, incluido el día anterior a la hospitalización. En la mañana en que fue internado, advirtió que tenía convulsiones focales con movimientos involuntarios de la hemicara derecha y el brazo del mismo lado. En la sala de urgencias presentó una convulsión generalizada que fue controlada con diazepam, fenitoína y fenobarbital intravenosos. Los datos adicionales que aportó la esposa del enfermo señalaron que cinco semanas antes se le había extraído una pieza dental y se le reparó un puente odontológico. No fumaba, su consumo de bebidas alcohólicas era de tipo "social" y no ingería medicamentos. Los demás datos de sus antecedentes no eran útiles.

Cuadro clínico

La temperatura del paciente fue de 37°C, su pulso de 110 latidos/min y 18 respiraciones por minuto. Su presión arterial fue de 140/80 mmHg.

En la exploración física se observó que el paciente estaba somnoliento y su atención había disminuido. Movía todas sus extremidades, aunque el movimiento de su brazo derecho era menor que el del izquierdo. Se observó la papila izquierda ligeramente borrosa, lo cual sugirió la posibilidad de hipertensión intracraneal. Los demás datos de su exploración física fueron normales.

Datos de laboratorio y estudios de imagen

Los resultados de laboratorio fueron todos normales, incluidos la hemoglobina y el hematócrito, recuento de leucocitos y diferencial, los electrólitos séricos, el nitrógeno de urea sanguínea, la creatinina sérica, los análisis de orina, la radiografía de tórax y el electrocardiograma. No se practicó punción lumbar ni se estudió el LCR ante la posibilidad de hipertensión intracraneal por una lesión ocupativa. Los cultivos de sangre fueron negativos. La tomografía computadorizada (CT) de la cabeza indicó la presencia de una lesión localizada de 1.5 cm anular con borde realzado en el hemisferio parietal izquierdo, sugestiva de un absceso cerebral.

Tratamiento

El paciente se sometió a un procedimiento de neurocirugía con drenaje de la lesión, la cual se extrajo por completo. En el cultivo del material necrótico obtenido de ella se identificaron *Prevotella melaninogenica* (cap. 21) y *Streptococcus anginosus* (cap. 14). El estudio patológico del tejido sugirió que la lesión tenía algunas semanas de evolución. Durante cuatro semanas se administró antibioticoterapia y cesaron las convulsiones y no hubo déficit neurológico subsiguiente. Un año más tarde se interrumpió el uso de los anticonvulsivos y una tomografía computadorizada de seguimiento fue negativa.

Comentarios

Un absceso cerebral es una infección por bacterias piógenas, localizada dentro del parénquima cerebral. Sus principales manifestaciones clínicas dependen de que exista una masa ocupativa en el cerebro y no de los signos y síntomas clásicos de infección. Por lo comentado, las manifestaciones suelen ser cefalea y cambio en el estado mental de una situación normal a otra de letargo o coma. En menos de la mitad de los pacientes aparecen signos neurológicos focales relacionados con el sitio en que está el absceso; 33% de los pacientes muestra convulsiones, y menos de la mitad, tiene fiebre. A veces el cuadro inicial incluye signos y síntomas que sugieren meningitis aguda. En el comienzo, el clínico debe diferenciar el absceso cerebral de otros cuadros del sistema nervioso central que incluyen cánceres primarios o metastásicos, abscesos subdurales o epidurales, infecciones por virus (encefalitis por herpes simple), meningitis, accidente cerebrovascular y otras enfermedades.

Entre los factores predisponentes importantes para que surja un absceso cerebral están las infecciones distantes con bacteriemia, como endocarditis, infecciones pulmonares y otras ocultas. Muchos enfermos en fecha reciente fueron sometidos a maniobras odontológicas. El absceso cerebral también puede aparecer por propagación desde zonas contiguas de infección, como sería el oído medio, la mastoides o senos paranasales, o después de traumatismos penetrantes. Sin embargo, 20% de sujetos con abscesos cerebrales no tiene factores predisponentes identificables.

El absceso cerebral puede ser causado por una sola especie de bacterias, pero más a menudo se aíslan varias, en promedio dos especies. De las bacterias facultativas y aerobias, las más frecuentes que se detectan en 33 a 50% de los pacientes, son los estreptococos viridans (incluidas las cepas hemolíticas α y β y las no hemolíticas, el grupo *S. anginosus* [milleri], *Streptococcus mitis*, etc; cap. 14). En 10 a 15% de los casos se aísla *Staphylococcus aureus* (cap. 13) y al aparecer suele ser el único microorganismo que se identifica. En aproximadamente 25% de los enfermos se detectan bacilos intestinales gramnegativos, a menudo en cultivos mixtos. En los abscesos cerebrales también se identifican muchas otras bacterias facultativas o aerobias como *S. pneumoniae, Nocardia asteroides*, *M. tuberculosis* y micobacterias no tuberculosas. En la mitad o más de los pacientes se detectan bacterias anaerobias (cap. 21). Las más comunes son *Peptostreptococcus* y le siguen en frecuencia especies de *Bacteroides* y *Prevotella*. Con menor frecuencia se identifican *Fusobacterium, Actinomyces* y *Eubacterium* y le siguen en ese orden otros anaerobios. Los hongos (cap. 45) aparecen casi exclusivamente en pacientes inmunodeprimidos. Las especies de *Candida* son los hongos más prevalentes pero también se detectan con frecuencia cada vez mayor hongos oportunistas como especies de *Aspergillus* y *Scedosporium apiospermum*. También pueden causar abscesos cerebrales hongos dimórficos como *Coccidioides immitis*. Un patógeno importante en enfermos de sida es *C. neoformans*. Entre los parásitos (cap. 46) que ocasionan abscesos cerebrales están *Toxoplasma gondii*, que es el protozoo más frecuente, particularmente en enfermos de sida, neurocisticercosis (forma larvaria de *Taenia solium*), *Entamoeba histolytica*, especies de *Schistosoma* y *Paragonimus*.

La punción lumbar para extraer LCR por lo común no está indicada en personas con un absceso cerebral (o si hay otras lesiones ocupativas en el cerebro) porque la hipertensión intracraneal hace que tal método pueda ser mortal, ante la posibilidad de hernia cerebral a través de la tienda del cerebelo, y como resultado surja compresión del mesencéfalo. Los hallazgos en el LCR son inespecíficos del absceso cerebral: a menudo se detectan leucocitos, predominantemente mononucleares; el nivel de glucosa puede disminuir moderadamente y aumentar la concentración de proteínas; por todo lo comentado, si no surgen fiebre y signos que sugieran meningitis aguda y se sospecha la presencia de un absceso cerebral, el médico debe ordenar la práctica de una CT. De manera típica el absceso cerebral muestra captación del material radiopaco, en la CT, con una zona anular de borde realzado, aunque se identifican a veces signos similares en individuos con tumores cerebrales y otras enfermedades. La resonancia magnética puede ser útil para diferenciar entre abscesos cerebrales y tumores, y la diferenciación definitiva entre ellos se hace por el estudio patológico y el cultivo del tejido de la lesión, obtenido por medio de un método neuroquirúrgico.

Los abscesos cerebrales sin tratamiento son mortales. La extirpación quirúrgica constituye la terapia inicial, y ella permite confirmar el diagnóstico del absceso. En lugar de la extirpación

puede hacerse aspiración con una aguja, por medio de una técnica estereotáctica. Se administrarán antibióticos por vía parenteral e incluirán dosis altas de penicilina G contra estreptococos y muchos anaerobios, metronidazol contra anaerobios resistentes a la penicilina G y además una cefalosporina de tercera generación para combatir los bacilos intestinales gramnegativos. En la terapia inicial se tendrá que incluir vancomicina u otro fármaco específico contra *S. aureus* si la persona tiene endocarditis, si se ha identificado bacteriemia por estafilococos, o si se detectan éstos en el absceso. La terapia inicial con antibióticos en vez de la cirugía puede emprenderse en algunos enfermos si sus abscesos cerebrales son pequeños (<2 cm), si son múltiples o si es difícil abordarlos quirúrgicamente, pero el deterioro de las funciones neurológicas denota la necesidad de operar. Una vez que se tienen los resultados del cultivo del material del absceso se modificará la antibioticoterapia inicial para que sea específica contra las bacterias identificadas en la lesión. La antibioticoterapia debe continuarse durante tres a cuatro semanas, como mínimo, si se practica la extirpación quirúrgica, o por ocho semanas o más si no se realizó dicho método. Las causas no bacterianas del absceso cerebral por lo común obligan a plantear diagnósticos definitivos y tratamientos específicos. Los corticoesteroides para disminuir el edema solamente se deben utilizar cuando hay un efecto de masa ocupativa.

REFERENCIAS

Bernardini GL: Diagnosis and management of brain abscess and subdural empyema. Curr Neurol and Neurosci Reports 2004;4:448.

Tunkel AR: Brain abscess. In *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia, PA, 2010.

Yogev R et al: Management of brain abscesses in children. Pediatr Infect Dis 2004;23:157.

TÓRAX

CASO 3: NEUMONÍA BACTERIANA

Un varón de 35 años acudió a la sala de urgencias por tener fiebre y dolor en hemitórax izquierdo cuando tosía. Cinco días antes había presentado signos de una infección viral en la vía respiratoria alta, con faringitis, rinorrea e intensificación de la tos. El día anterior a la consulta médica presentó dolor en hemitórax izquierdo cuando tosía o respiraba profundamente. Doce horas antes de acudir a la sala de urgencias, despertó con un escalofrío intenso y sudoración profusa. El interrogatorio posterior indicó que ingería cantidades moderadas a abundantes de bebidas alcohólicas y durante 17 años fumó todos los días una cajetilla de cigarrillos. Trabajaba en un taller de reparación de automóviles y había tenido dos hospitalizaciones, cuatro años antes, por un síndrome de abstinencia alcohólica y dos años antes por bronquitis aguda.

Cuadro clínico

La temperatura era de 39°C, el pulso era de 130 latidos/min y 28 respiraciones/min. Su presión arterial era de 120/80 mmHg.

En la exploración física se observó que era un varón con moderado sobrepeso que tosía frecuentemente y que sostenía el hemitórax izquierdo al toser. Expulsaba muy escaso esputo espeso de color herrumbroso. La exploración del tórax indicó movimientos normales del diafragma. Al percutir la zona posterolateral del hemitórax afectado se advirtió matidez, lo cual sugería consolidación pulmonar. En la misma área se percibían ruidos respiratorios tubulares (bronquiales), junto con estertores crepitantes secos, compatibles con consolidación pulmonar y presencia de moco viscoso en las vías respiratorias. El resto de su exploración física fue normal.

Datos de laboratorio y estudios de imagen

En la radiografía del tórax se detectó una zona de consolidación densa en el lóbulo inferior izquierdo, compatible con neumonía bacteriana. El hematócrito fue de 45% (normal). El recuento de leucocitos fue de 16 000 células/μl (muy elevado), con 80% de PMN, con un recuento absoluto de éstos de 12 800/μl (muy elevado), 12% de linfocitos y 8% de monocitos. Los datos de la química sanguínea, incluidos electrólitos, fueron normales. El esputo era espeso, de color amarillento a herrumbroso, y aspecto purulento. La tinción de Gram de dicho material indicó abundancia de PMN y diplococos grampositivos en forma de lanceta. Veinticuatro horas más tarde, en los cultivos se identificó *S. pneumoniae* (cap. 14). En los cultivos de esputo proliferaron innumerables *S. pneumoniae* y unas cuantas colonias de *H. influenzae* (cap. 18).

Tratamiento

El diagnóstico inicial fue de neumonía bacteriana, probablemente por neumococos. Se inició la administración parenteral de penicilina G acuosa y el paciente recibió soluciones parenterales. En un plazo de 48 h la temperatura se normalizó y expulsó por tos grandes cantidades de esputo purulento. La administración de penicilina G se continuó durante siete días. En la revisión de vigilancia cuatro semanas después de su hospitalización había cedido la consolidación pulmonar.

CASO 4: NEUMONÍA VIRAL

Un varón de 31 años acudió al médico y le señaló que tenía erupción cutánea, tos y disnea. Cuatro días antes comenzó a sentirse mal y presentó fiebre de 38°C. Al día siguiente le apareció una erupción cutánea que tenía inicialmente el aspecto de “ronchas”, pero pronto se convirtieron en vesículas. Más tarde aparecieron algunos brotes de lesiones cutáneas muy pruriginosas. Dos horas antes de su hospitalización sintió dolor en el hemitórax derecho cuando respiraba en forma profunda o tosía.

CUADRO 48-3 Características y tratamientos de algunas neumonías selectas

Microorganismos	Entorno clínico	Extensiones de esputo teñidas con método de Gram	Radiografías de tórax[a]	Estudios de laboratorio	Complicaciones	Tratamiento antimicrobiano preferido[b]	Capítulo
Streptococcus pneumoniae	Enfermedades cardiopulmonares crónicas; aparece después de infecciones de vías respiratorias altas	Diplococos grampositivos	Consolidación lobar	Frotis de esputo teñido con método de Gram; hemocultivo, cultivo de líquido pleural y búsqueda de antígeno en orina	Bacteriemia, meningitis, endocarditis, pericarditis, empiema	Penicilina G (o la V, oral); fluoroquinolonas o vancomicina en caso de microorganismos muy resistentes a la penicilina	14
Haemophilus influenzae	Enfermedades cardiopulmonares crónicas; surge después de infecciones de vías respiratorias altas	Cocobacilos gramnegativos pequeños	Consolidación lobar	Cultivo de esputo, sangre o líquido pleural	Empiema, endocarditis	Ampicilina (o amoxicilina) si el microorganismo es lactamasa β-negativo; cefotaxima, o ceftriaxona	18
Staphylococcus aureus	Epidemias de influenza; intrahospitalaria	Cocos grampositivos en cúmulos	Infiltrados irregulares	Cultivo de esputo, sangre o líquido pleural	Empiema, cavitación	Nafcilina[c]	13
Klebsiella pneumoniae	Abuso de alcohol; diabetes mellitus; intrahospitalaria	Bacilos encapsulados gramnegativos	Consolidación lobar	Cultivo de esputo, sangre y líquido pleural	Cavitación, empiema	Una cefalosporina de tercera o cuarta generación; en caso de infección grave,[d] agregar gentamicina o tobramicina	15
Escherichia coli	Intrahospitalaria; sólo en raras ocasiones, extrahospitalaria	Bacilos gramnegativos	Infiltrados irregulares y derrame pleural	Cultivo de esputo, sangre y líquido pleural	Empiema	Una cefalosporina[d] de tercera generación	15
Pseudomonas aeruginosa	Intrahospitalaria; fibrosis quística	Bacilos gramnegativos	Infiltrados irregulares, cavitación	Cultivo de esputo, sangre	Cavitación	Una cefalosporina, o un carbapenémico contra seudomonas o una combinación de un lactámico β/inhibidor de lactamasa β como piperacilina/tazobactam y además un aminoglucósido	16
Anaerobios	Broncoaspiración, periodontitis	Flora mixta	Infiltrados irregulares en zonas inferiores del pulmón	Cultivo del líquido pleural o de material obtenido por aspiración transtorácica; broncoscopia con un aplicador protegido para muestras	Neumonía necrosante, absceso o empiema	Clindamicina	11, 20, 48
Mycoplasma pneumoniae	Adultos jóvenes; ataca en verano y otoño	PMN y monocitos; no se detectan bacterias patógenas	Infiltrados irregulares extensos	Título de fijación de complemento,[e] los títulos de crioaglutinina sérica no son útiles porque no poseen sensibilidad ni especificidad; PCR	Erupciones cutáneas, miringitis ampollosa; anemia hemolítica	Eritromicina, azitromicina o claritromicina; doxiciclina o fluoroquinolonas	25

Especies de *Legionella*	Ataca en verano y otoño; exposición a sitios en construcción, fuentes de agua, acondicionadores de aire, contaminados; extrahospitalaria o intrahospitalaria	Pocos PMN; no hay bacterias	Consolidación irregular o lobar	Título de anticuerpos inmunofluorescentes;[e] cultivo de esputo o tejido;[f] antígeno de *Legionella* en orina (*L. pneumophila* serogrupo 1 solamente); PCR	Empiema, cavitación, endocarditis y pericarditis	Azitromicina o claritromicina, con rifampicina o sin ella; fluoroquinolonas	22
Chlamydophila pneumoniae	Semejanza clínica con la neumonía por *M. pneumoniae*, pero los síntomas prodrómicos duran más (incluso dos semanas); es frecuente que haya faringitis y ronquera; neumonía benigna en adolescentes y adultos jóvenes	Inespecíficos	Infiltrado subsegmentario menos notable que en el caso de la neumonía por *M. pneumoniae*; es rara la consolidación	Aislamiento muy difícil; la técnica recomendada es la microinmunofluorescencia con antígenos TWAR	La reinfección en adultos mayores que tienen como trastorno básico EPOC o insuficiencia cardiaca puede ser grave o incluso mortal	Doxiciclina, eritromicina, claritromicina, o fluoroquinolonas	27
Moraxella catarrhalis	Neumopatías preexistentes; senectud, administración de corticoesteroides o inmunodepresores	Diplococos gramnegativos	Infiltrados irregulares; a veces consolidación lobar	Tinción de Gram en cultivos de esputo o material de aspiración bronquial	Raras ocasiones, derrames pleurales y bacteriemia	Trimetoprim/ sulfametoxazol o ácido clavulánico-amoxicilina, o cefalosporinas de la segunda o tercera generación	20
Pneumocystis jiroveci	SIDA, terapia inmunodepresora	No es útil en el diagnóstico	Infiltrados intersticiales y alveolares y difusos; infiltrados apicales o del lóbulo superior, con la pentamidina en aerosol	Quistes y trofozoítos de *P. jiroveci* con las tinciones de metenamina argéntica o de Giemsa, hechas en esputo o líquido de BAL; anticuerpos inmunofluorescentes directos en líquido BAL	Neumotórax, insuficiencia respiratoria, ARDS, muerte	Trimetoprim/ sulfametoxazol, isetionato de pentamidina	45

[a]Los signos radiográficos son inespecíficos.

[b]Los métodos de susceptibilidad microbiana (antibioticogramas) deben orientar en el tratamiento.

[c]Las infecciones por *S. aureus* resistente a nafcilina se tratan con vancomicina.

[d]El tratamiento se puede complicar por la presencia de microorganismos que producen lactamasa β de espectro extendido, y también los que producen carbapenemasa.

[e]Confirma el diagnóstico el título cuatro veces mayor.

[f]Se necesitan medios selectivos.

PMN, polimorfonucleares; TWAR, cepa Taiwán de neumopatía; ARDS, síndrome de dificultad respiratoria aguda; BAL, lavado broncoalveolar.

Dos semanas antes de la hospitalización su hija de ocho años tuvo varicela (cap. 33), y él participó en su cuidado. No sabía si de niño había tenido dicha enfermedad.

Cuadro clínico

La temperatura fue de 39°C, el pulso de 110 latidos/minuto y tuvo 30 respiraciones/min. Su presión arterial fue de 115/70 mmHg. El paciente parecía muy incómodo. Tenía una erupción cutánea que consistió en brotes o fases múltiples de lesiones que variaban desde maculopápulas rojas hasta vesículas que se habían roto y formado costras. Sus dedos de las manos y sus labios mostraban una leve cianosis. Se percibieron estertores en los campos pulmonares de ambos lados. El resto de su exploración física fue normal.

Datos de laboratorio y estudios de imagen

En las radiografías de tórax se observaron infiltrados pulmonares intersticiales difusos bilaterales. Los gases en sangre arterial incluyeron Po_2 de 60 mmHg con una saturación de hemoglobina de 91%. Se observaron resultados normales en el hematócrito, en el recuento de leucocitos, en los electrólitos en suero y en los estudios de función hepática.

Tratamiento y evolución hospitalaria

El sujeto fue hospitalizado y se le sometió a oxigenoterapia, con la cual mejoró su hipoxia. Por vía endovenosa se administraron grandes dosis de aciclovir. En los días siguientes mejoró su función respiratoria y para el sexto día se interrumpió la administración de oxígeno. El tercer día se cambió a aciclovir por vía oral y se continuó su administración durante 10 días en total. El séptimo día se dio de alta al paciente para ser atendido en su hogar.

Comentario

La **neumonía bacteriana** aguda por lo común comienza con un cuadro repentino de escalofríos y fiebre, tos y a menudo **dolor torácico pleurítico**. La tos frecuentemente es productiva y genera **esputo purulento** y muchos sujetos con neumonía no están hidratados de manera adecuada y por ello no generan esputo hasta que reciben soluciones, como ocurrió en este caso. Aparece dolor torácico pleurítico cuando el cuadro inflamatorio de la neumonía afecta las pleuras del pulmón y de la cavidad torácica; el desplazamiento de ambas capas, como sucede con la tos o la respiración profunda, ocasiona dolor localizado. Los sujetos con neumonía aguda tienen un aspecto enfermo y por lo común tienen taquipnea (respiración rápida) y taquicardia (frecuencia cardiaca elevada). Muchos individuos con la enfermedad tienen factores predisponentes (insuficiencia cardiaca congestiva, neumopatía obstructiva crónica y otros trastornos) que se exacerban antes de aparecer la neumonía al mismo tiempo.

Los signos en la exploración física son los que se observan en la **consolidación del tejido pulmonar**, que son moco purulento (**esputo**) en las vías respiratorias, y en algunos enfermos, líquido en la cavidad torácica. En la percusión se advierte matidez en el área de consolidación (o líquido). Al ocurrir esta última se cierran bronquíolos y alvéolos y únicamente las grandes vías respiratorias quedan abiertas; en la auscultación en la zona se perciben ruidos tubulares. En caso de bloqueo de todas las vías respiratorias no se escuchan ruidos respiratorios. La detección de estertores secos o ruidos crepitantes en la auscultación denota la presencia de líquido o moco en las vías respiratorias y a veces cambian cuando la persona tose.

La **neumonía viral** se caracteriza por inflamación intersticial del tejido pulmonar y la formación de membranas hialinas en los espacios alveolares, y suele acompañar a la bronquiolitis y el desprendimiento de células ciliadas de las vías respiratorias pequeñas, con inflamación peribronquial. Los virus que causan neumonía más a menudo son: el sincitial respiratorio, los de parainfluenza (por lo general el tipo 3), el de influenza, los adenovirus, el de sarampión y el de varicela-zoster (caps. 32, 39 y 40). El citomegalovirus (cap. 33) causa neumonía en personas que han recibido trasplante alógeno de médula ósea y trasplante de órgano sólido y también en ellos el virus de varicela-zoster puede ocasionar dicho cuadro. Los virus patógenos de reciente identificación como Metapneumovirus y algunos Coronavirus pueden causar enfermedad muy similar a la que originan los virus patógenos más comunes de vías respiratorias (caps. 40, 41). El Coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave (SARS, *severe acute respiratory syndrome*) fue el que causó la epidemia de neumopatía mortal en varios países. Otros agentes infecciosos (y no infecciosos también) causan neumonitis intersticial con consolidación focal del pulmón o sin ella, y entre los ejemplos están *Legionella pneumophila* (cap. 22) *Mycoplasma pneumoniae* (cap. 25) y *Pneumocystis jiroveci* (cap. 45). Los signos físicos en la exploración del tórax en casos de neumonía viral a menudo son escasos y sólo se perciben en la auscultación estertores. Algunos de los virus ocasionan erupciones características que a veces orientan en el diagnóstico. En las radiografías de tórax se observan en ambos lados infiltrados intersticiales difusos y puede haber áreas focales de consolidación. Son importantes las medidas complementarias como la oxigenoterapia y el uso de antivirales específicos, en la medida de lo posible.

Las causas más frecuentes de **neumonía extrahospitalaria** son: *S. pneumoniae*, *M. pneumoniae* (**neumonía atípica** en sujetos jóvenes) y *L. pneumophila* (cuadro 48-3); de forma colectiva, los patógenos mencionados pueden causar incluso 75% de los casos de neumonía extrahospitalaria. La neumonía por *H. influenzae* es frecuente que se relacione con neumopatías crónicas. Otras causas incluyen *Chlamydophila pneumoniae* (cap. 27) (que comprende incluso 10% de las neumonías extrahospitalarias), *S. aureus* (cap. 13), que acompaña a infecciones por virus de influenza, y *Klebsiella pneumoniae* (cap. 15) en alcohólicos crónicos. Otros bacilos gramnegativos son causas poco frecuentes de neumonía extrahospitalaria. Las **infecciones pleuropulmonares con bacterias anaerobias mixtas** se relacionan con factores predisponentes como enfermedades periodontales, cuadros convulsivos, estupor o coma y aspiración de bacterias bucofaríngeas hacia los pulmones. Con las infecciones mixtas por anaerobios aparece neumonía, absceso pulmonar e infección del espacio pleural (empiema o pus en la cavidad torácica).

La **neumonía intrahospitalaria** suele ser causada por bacilos intestinales gramnegativos como *E. coli* (cap. 15), *Pseudomonas aeruginosa* (cap. 16) y *S. aureus* (cap. 13) y también *Legionella* puede ocasionar la neumonía del tipo mencionado. Los hongos, que incluyen *Histoplasma capsulatum, C. immitis,* y *C. neoformans* (cap. 45) causan **neumonía extrahospitalaria**; existe mayor

posibilidad de que especies de *Candida* y *Aspergillus* (cap. 45) causen infecciones intrahospitalarias.

La biometría hemática de personas con neumonía por lo común indica la presencia de leucocitosis, con incremento en el número de PMN. En la radiografía de tórax se advierten infiltrados segmentarios o lobares. A veces se identifican cavidades, en particular en el caso de infecciones anaerobias mixtas o neumonía por *S. aureus* o estreptococos del grupo A. También se detectan a veces derrames pleurales y en caso de surgir, obligan a practicar toracocentesis y así obtener líquido para recuento y cultivos celulares. En todo paciente con neumonía aguda habrá que hacer cultivos de sangre y de esputo.

Muchos enfermos de neumonía bacteriana, y otros más con el mismo cuadro causado por otros microorganismos, muestran esputo mucopurulento. El esputo de color herrumbroso sugiere ataque alveolar y aparece en la neumonía neumocócica, aunque surge con otros microorganismos también. El esputo fétido sugiere infección con anaerobios mixtos. Es importante separar una fracción purulenta del esputo para en ella hacer tinción de Gram y estudio microscópico; la muestra adecuada de esputo debe tener más de 25 PMN y menos de 10 células epiteliales en el campo de baja potencia (amplificación 100×). Por costumbre, el estudio microscópico del esputo se ha utilizado para identificar la causa de la neumonía; sin embargo, es difícil a veces diferenciar los microorganismos que son parte de la flora normal de la bucofaringe, de los que causan la neumonía. Detectar innumerables diplococos grampositivos en forma de lanceta sugiere en gran medida presencia de *S. pneumoniae*, pero los estreptococos que son parte de la flora de la boca y la faringe tienen el mismo aspecto. La utilidad principal de la tinción del frotis de esputo es el caso en que se detectan microorganismos no esperados (como innumerables PMN junto con abundantes bacilos gramnegativos, que sugieren bacilos intestinales o pseudomonas o incontables cocos grampositivos en racimos que sugieren estafilococos). Los cultivos de esputo comparten muchas de las desventajas de los frotis, pues con ellos es difícil diferenciar entre la flora normal y las bacterias colonizantes, de las que causan la neumonía.

La demostración real de la causa de la neumonía se obtiene de un conjunto limitado de muestras: la positividad de un hemocultivo en un sujeto con neumonía sin infecciones confusas; la positividad del líquido pleural o del cultivo directo del aspirado pulmonar; y la detección del antígeno circulante de un microorganismo específico sin alguna infección confusa (como el caso del antígeno urinario de *S. pneumoniae*). Es muy útil que el cultivo de esputo obtenido por aspiración transtraqueal sea positivo, pero dicho método rara vez se practica. La broncoscopia suele practicarse para obtener material para estudios diagnósticos en pacientes de neumonía y en estado muy grave y se recomienda en casos de neumonía en profesionales de la salud y la que se observa en el hospedador inmunodeprimido. Es útil el cultivo bacteriano cuantitativo realizado en una muestra de lavado broncoalveolar (BAL, *bronchoalveolar lavage*) obtenida con gran cuidado y con el uso de una cifra límite de 10^4 cfu/ml de un patógeno específico por muestra, para que tenga significación clínica y así corroborar el origen de la neumonía bacteriana en individuos que no habían sido tratados con antibióticos. La broncoscopia junto con el BAL también puede permitir que se identifique un patógeno no bacteriano como un moho filamentoso o un virus patógeno en un sujeto expuesto a riesgos.

En Estados Unidos, algunas sociedades profesionales han establecido directrices prácticas para el diagnóstico y el tratamiento empírico y definitivo de neumonías extrahospitalarias y las que surgen en el personal de atención a la salud y la neumonía relacionada con el respirador. En el caso de pacientes que tienen neumonía extrahospitalaria se recomienda como fármaco único un macrólido, una fluoroquinolona o doxiciclina si antes de su ingreso en el hospital gozaban de buena salud. Se recomienda como tratamiento empírico inicial un macrólido con un lactámico β o una fluoroquinolona sola en pacientes ambulatorios en quienes existe el problema de resistencia y en otros que necesitan hospitalización. Los regímenes mencionados habrán de modificarse en el caso de que se confirme la causa, y una vez que se precise la susceptibilidad del agente causal. En el caso de las neumonías hospitalarias o las del personal de atención a la salud, un problema grave es la multirresistencia, y se necesita a veces tratamiento personalizado contra pseudomonas, que incluya cefalosporinas de tercera generación, carbapenémicos o combinaciones de inhibidores de lactamasa β/lactámicos β junto con un aminoglucósido.

REFERENCIAS

ATS and IDSA Committees: Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. Am J Respir Crit Care Med 2005;171:388.

Mandell LA et al: Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. Clin Infect Dis 2007;44:527.

CORAZÓN

CASO 5: ENDOCARDITIS

Mujer de 45 años que fue hospitalizada por mostrar fiebre, disnea y adelgazamiento. Antes de su internamiento mostró escalofríos, sudoración profusa y anorexia, manifestaciones que agravaron hasta la hospitalización. Cuatro semanas antes de su internamiento presentó dorsalgia persistente. La disnea con el ejercicio se agravó y en vez de caminar tres cuadras, podía caminar sólo una. Para la fecha de su hospitalización señaló haber perdido 5 kg.

En su niñez se le diagnosticó fiebre reumática, y en esa época mostró hinchazón de articulaciones y fiebre y estuvo en reposo absoluto durante tres meses. Más tarde se le detectó un soplo en el corazón.

Cuadro clínico

La temperatura fue de 38°C, su pulso, de 90 latidos/min y tuvo 18 respiraciones/min. Su presión arterial fue de 130/80 mmHg.

En la exploración física se observó una mujer con sobrepeso moderado, consciente y orientada. Le faltaba el aire cuando trataba de ascender dos pisos de escaleras. La revisión de los ojos indicó la presencia de una mancha de Roth (mancha blanquecina y redonda rodeada de hemorragia), en la retina derecha. En

las conjuntivas y en los dos ojos se observaron petequias. En la cabeza y el cuello los datos fueron por lo demás normales. Debajo de dos uñas en la mano derecha y otra en la mano izquierda se identificaron hemorragias en astilla. En la yema de un dedo de la mano y de otro del pie se detectaron nódulos de Osler (lesiones cutáneas de color rojo violáceo, elevadas, pequeñas y dolorosas). El tamaño cardiaco era normal a la percusión. En la auscultación se percibió en la punta del corazón un soplo diastólico de tono bajo compatible con estenosis de la válvula mitral; en el hemitórax izquierdo se percibió un chasquido intenso de abertura de la válvula mencionada. La exploración del abdomen fue difícil por su obesidad, y uno de los observadores percibió esplenomegalia. El resto de su exploración física fue normal.

Datos de laboratorio y estudios de imagen

Las radiografías de tórax señalaron que el contorno cardiaco y los pulmones eran normales. El ECG mostró ritmo sinusal normal con ondas P amplias (conducción auricular). La ecocardiografía mostró auriculomegalia izquierda, engrosamiento de las valvas de la mitral y una vegetación en la valva posterior. El hematócrito fue de 29% (bajo). El número de leucocitos fue de 9 800 células/μl (normal alto), y de ellos 68% fueron PMN (cifra alta), 24% linfocitos y 8%, monocitos. La velocidad de eritrosedimentación fue de 68 mm/hora (alta). Los resultados de la química sanguínea, incluidos electrólitos y las pruebas de función renal, fueron normales. El día de la hospitalización se practicaron tres hemocultivos. Veinticuatro horas después hubo detección positiva de cocos grampositivos en cadenas, que correspondían a la variedad viridans que más tarde fueron identificados como *Streptococcus sanguis* (cap. 14).

Tratamiento

Se hizo el diagnóstico de endocarditis de la válvula mitral. Se comenzó la administración intravenosa de penicilina G y de gentamicina, que se continuó durante dos semanas. En término de tres días de haber comenzado el tratamiento la paciente no tenía fiebre y después de la eliminación satisfactoria de la endocarditis, fue enviada a una institución para el tratamiento crónico de su cardiopatía.

Comentario

Los síntomas y los signos de la **endocarditis** son muy variados porque pueden abarcar cualquier órgano o sistema de manera secundaria (o primaria). La fiebre afecta a 80 a 90% de los pacientes; los escalofríos, a 50%, la anorexia y el adelgazamiento a 25%, y las lesiones cutáneas a 25%, aproximadamente. Muy a menudo surgen manifestaciones inespecíficas como cefalea, dorsalgia, tos y artralgias. El cuadro inicial, incluso en 25% de los sujetos con endocarditis, incluye signos neurológicos o accidentes cerebrovasculares como consecuencia de émbolos que provienen de **vegetaciones de válvulas cardiacas**. En 10 a 20% de los pacientes se detectan dorsalgia, dolor retroesternal y también en el abdomen. De manera típica, los signos físicos incluyen fiebre en 90 a 95% de los casos; un **soplo cardiaco** en 80 a 90% de los pacientes y en 15% de ellos aparece un soplo nuevo o cambiante, y en la mitad de los enfermos hay esplenomegalia y lesiones cutáneas. Otros signos y síntomas físicos guardan relación directa con las complicaciones de las metástasis infecciosas y émbolos provenientes de las vegetaciones.

Los estreptococos causan aproximadamente 70% de los casos de endocarditis. Entre ellos, los más comunes son estreptococos viridans de varias especies (por ejemplo, de los grupos *S. sanguis, S. salivarius, S. mutans, S. bovis;* cap. 14), y le siguen en frecuencia enterococos (como *E. faecalis*) y otros estreptococos. Estos últimos por lo común ocasionan endocarditis en válvulas cardiacas anormales. *S. aureus* origina 20 a 25% de los casos de endocarditis y *Staphylococcus epidermidis* 5%, en promedio (cap. 13). *S. aureus* puede infectar válvulas cardiacas normales; afecta frecuentemente a quienes abusan de drogas intravenosas y ocasiona una enfermedad de evolución más rápida que la causada por estreptococos. *S. epidermidis* origina endocarditis de prótesis valvulares y sólo en raras ocasiones infecta válvulas originales. En 5%, aproximadamente hay ataques de bacilos gramnegativos (caps. 15, 18) y en 3% de los casos el ataque proviene de levaduras como *Candida albicans* (cap. 45). Con frecuencia cada vez mayor se ha señalado el ataque de patógenos nuevos como especies de *Bartonella* (cap. 22) y de *Tropheryma whipplei* (cap. 22). Otras bacterias más y de hecho cualquier especie pueden originar endocarditis y en un porcentaje de casos se presentan cultivos negativos.

Instrumentos diagnósticos importantes son el interrogatorio y la exploración física. El diagnóstico lo sugieren la positividad repetida de hemocultivos, sin otros sitios de infección. Un método complementario muy útil puede ser la ecocardiografía y la presencia de vegetaciones en una persona con fiebre inexplicada, y sugiere decididamente la presencia de endocarditis.

La antibioticoterapia es esencial, porque sin tratamiento la endocarditis es mortal. Es necesario utilizar fármacos bactericidas, y los antibióticos por seleccionar dependen del microorganismo infeccioso: en el caso de estreptococos viridans se recurrirá a penicilina G más gentamicina durante dos semanas, y en el caso de enterococos susceptibles se recomienda que la terapia dure cuatro semanas. La vancomicina es el tratamiento más adecuado en el caso de cepas resistentes a la penicilina. En caso de multirresistencia en enterococos, se requiere el uso de agentes más recientes como linezolida y daptomicina, con base en datos de susceptibilidad. La infección por *S. aureus* se trata con una penicilina resistente a la penicilinasa (como nafcilina), a la que se agrega frecuentemente gentamicina durante los primeros cinco días del tratamiento. Los lactámicos β sustituyen a la vancomicina en caso de estreptococos resistentes a meticilina/oxacilina. El tratamiento de la endocarditis por estafilococos dura seis semanas. En el caso de bacterias diferentes a los estreptococos y los estafilococos se utilizarán antibióticos con actividad demostrada. En ocasiones se necesita la sustitución valvular quirúrgica cuando la insuficiencia de las válvulas (p. ej., insuficiencia aórtica) ocasiona insuficiencia cardiaca aguda, incluso si existe infección activa. Se requiere cirugía en caso de endocarditis micótica y en caso de fracaso del tratamiento farmacológico; a menudo es necesaria en casos de endocarditis por gramnegativos, y es importante si la infección afecta el seno de Valsalva u ocasiona abscesos septales y cuando reaparece la embolización.

REFERENCIAS

Baddour LM et al: Infective endocarditis: Diagnosis, antimicrobial therapy, and management of complications. A statement for

healthcare professionals from the Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Councils on Clinical Cardiology, Stroke, and Cardiovascular Surgery and Anesthesia, American Heart Association: Endorsed by the Infectious Diseases Society of America. Circulation 2005;111:e394; reference to these includes Correction, Circulation 2005; 112:2373. (Executive Summary, Circulation 2005;111:3167, Correction, Circulation 2005;112:2374). Accessed at http://circ.ahajournals.org/cgi/content/full/111/23/e394.

ABDOMEN

CASO 6: PERITONITIS Y ABSCESOS

Un estudiante varón de 18 años fue hospitalizado por presentar fiebre y dolor abdominal. Su estado había sido satisfactorio tres días antes de su internamiento, y para esa fecha presentó dolor abdominal difuso y vómito después de la cena. El dolor persistió por la noche y empeoró en la mañana siguiente. Fue atendido en la sala de urgencias y en ella se detectó dolor a la palpación del abdomen. Los datos de las radiografías de tórax y de abdomen fueron normales; el recuento leucocítico fue de 24 000 células/μl y fueron normales los datos de otras pruebas de laboratorio, incluidas las de hígado y páncreas y la función renal. El paciente retornó a su hogar, pero el dolor abdominal y el vómito intermitente persistieron y surgió fiebre de 38°C. En el tercer día de su trastorno fue hospitalizado de nuevo.

No se obtuvieron antecedentes de consumo de fármacos, abuso de drogas o alcohol, traumatismos o infecciones, y los antecedentes familiares fueron negativos.

Cuadro clínico

La temperatura fue de 38°C, el pulso de 100 latidos/min y hubo 24 respiraciones/min. La presión arterial fue de 110/70 mmHg.

En la exploración física se observó que se trataba de un varón joven de desarrollo normal cuyo cuadro era agudo y que se quejaba de dolor abdominal difuso. La exploración de tórax y de corazón arrojó resultados normales, pero el abdomen mostraba distensión moderada. Se observó dolor difuso a la palpación en la zona periumbilical y en el cuadrante inferior derecho, con rigidez muscular durante la maniobra. Hubo sugerencia de una masa en el cuadrante inferior derecho. Los ruidos intestinales fueron poco frecuentes.

Datos de laboratorio y estudios de imagen

El hematócrito fue de 45% (normal) y la cifra de leucocitos, 20 000 células/μl (muy elevado), y de ellos 90% fue PMN (muy elevado) y 12%, linfocitos. La concentración de amilasa sérica (una prueba para detectar pancreatitis) fue normal y también lo fueron los electrólitos y los resultados de las funciones de hígado y riñones. Fueron normales también las radiografías de tórax y de abdomen, aunque se identificaron algunas asas de intestino delgado distendidas. La CT del abdomen detectó un cúmulo de líquido en el cuadrante inferior derecho, que se extendía al interior de la pelvis.

Tratamiento

Se envió al paciente al quirófano y durante la operación se identificaron apéndice perforado y un gran absceso periapendicular que se extendía al interior de la pelvis. Se extirpó el apéndice, se evacuaron unos 300 ml de líquido fétido del absceso y se colocaron drenajes. Durante dos semanas se administraron gentamicina, ampicilina y metronidazol. Cada día se extrajo parte de los drenajes y se retiraron por completo una semana después de la operación. En el cultivo del líquido del absceso se identificaron como mínimo seis especies de bacterias, incluidas *E. coli* (cap. 15), *Bacteroides fragilis* (cap. 21), estreptococos viridans y enterococos (flora gastrointestinal normal). El paciente se recuperó por completo.

Comentario

El dolor es la manifestación primaria usual de la **peritonitis** y de la formación de **abscesos intraabdominales**. El sitio y la intensidad del dolor dependen de la enfermedad primaria de las vísceras abdominales. La perforación de la úlcera gástrica ocasiona inmediatamente dolor epigástrico que se propaga rápido a todo el abdomen, con derramamiento del contenido gástrico. La rotura del apéndice o de un divertículo en el colon sigmoide suele originar dolor más localizado en los cuadrantes inferiores derecho o izquierdo, respectivamente, que acompaña a la peritonitis focal y a la formación de abscesos. El dolor se acompaña de náusea, vómito, anorexia y fiebre.

Los signos y los síntomas después del derrame agudo del contenido intestinal al interior del abdomen presentan dos fases. La primera es la de peritonitis, en la que surge dolor agudo por la infección por *E. coli* y otras bacterias anaerobias facultativas; esto sucede en los primeros dos días y sin tratamiento ocasiona una elevada tasa de mortalidad. La segunda fase es la formación de abscesos y depende de la infección por *B. fragilis* y otras bacterias anaerobias obligadas.

En la exploración física durante la fase aguda se detecta rigidez y dolor difuso o local en el abdomen; a menudo el dolor a la palpación es intenso cuando se retira la presión ejercida en el abdomen durante la palpación, situación conocida como **dolor por rebote**. Más tarde el abdomen se distiende y desaparece la motilidad intestinal (**íleo paralítico**).

Las bacterias que componen la **flora gastrointestinal normal** (cap. 10) son las que causan la peritonitis aguda y los abscesos que surgen con la rotura intestinal: *E. coli* y otros bacilos gramnegativos intestinales, enterococos, estreptococos viridans, *B. fragilis* y otros bacilos gramnegativos anaerobios y cocos grampositivos anaerobios y bacilos de muchas especies.

Los elementos iniciales importantes en el diagnóstico son los datos del interrogatorio y la exploración física, para valorar el

carácter agudo y el sitio en que surgió el problema. Las pruebas de laboratorio como el recuento leucocítico constituyen resultados anormales inespecíficos o permiten descartar enfermedades como pancreatitis, como ocurrió en este caso. Las radiografías del abdomen son complementos diagnósticos de gran utilidad y en ellos se pueden identificar cúmulos de gas y líquido en los intestinos grueso y delgado. Por medio de la CT se obtiene información más definitiva que orienta hacia anormalidades focales. En caso de que surja líquido, su aspiración con aguja y su cultivo permiten corroborar el diagnóstico de infección, pero no define el cuadro patológico primario.

Se necesita a veces una operación para definir el diagnóstico y al mismo tiempo se da un paso definitivo en el tratamiento. Se puede corregir el cuadro patológico primario como gangrena intestinal o rotura de apéndice y se puede drenar la infección localizada. Complementos importantes son los antimicrobianos y la selección de fármacos debe incluir uno que sea activo contra bacilos gramnegativos intestinales, otro contra enterococos y estreptococos y el tercero contra bacilos gramnegativos anaerobios que suelen ser resistentes a la penicilina G. Se han descrito innumerables esquemas y uno de ellos incluye gentamicina, ampicilina y metronidazol.

CASO 7: GASTROENTERITIS

Cuatro miembros de una familia de campesinos migrantes fueron atendidos en un hospital con diarrea y fiebre que habían comenzado 6 a 12 horas antes. El padre tenía 28 años, la madre 24 y los niños 6 y 4 años de edad. El día anterior los cuatro habían consumido una ensalada mixta verde, carne molida, tortillas y frijoles que habían sido preparados por otra persona en el campamento. Otro miembro de la familia, de ocho meses, no consumió los mismos alimentos y no se enfermó. Aproximadamente 24 horas después de la comida, los niños presentaron cólicos abdominales, fiebre y diarrea acuosa, síntomas que persistieron en las 12 h previas a su atención, y en ambos la diarrea se tornó sanguinolenta. Los padres presentaron síntomas similares 6 y 8 h antes, pero en su excremento no se identificó sangre visible.

Los padres afirmaron que otras personas del campamento presentaron cuadros similares en las dos semanas anteriores. Las instalaciones sanitarias en ese sitio eran primitivas.

Cuadro clínico

En la exploración física los niños tuvieron temperaturas de 39 a 39.5°C, y los padres, 38°C. Los cuatro tuvieron taquicardia, y su aspecto clínico era de un cuadro agudo. Los dos niños presentaban deshidratación.

El número de leucocitos varió de 12 000 a 16 000 células/μl, y de ellos 55 a 76% fueron PMN. En las preparaciones húmedas de heces se identificaron múltiples leucocitos. Las heces de los niños mostraban sangre y moco a simple vista. El cultivo del excremento de cada uno de los pacientes más adelante permitió identificar *Shigella flexneri* (cap. 15).

Tratamiento

Los dos niños fueron hospitalizados y se les suministraron por vía endovenosa soluciones y ampicilina. Los adultos fueron tratados de forma ambulatoria con soluciones orales y ciprofloxacina oral. Todos se recuperaron sin problema. La vigilancia por autoridades de salud pública mejoró las condiciones sanitarias del campamento.

Comentario

Los principales signos clínicos de las infecciones gastrointestinales son náusea, vómito, dolor abdominal, diarrea y fiebre. Las manifestaciones predominantes dependen del agente causal y de si es toxígeno, invasivo o tiene ambas características. Si los alimentos contienen toxinas preformadas, suelen ocasionar náusea y vómito. Por ejemplo, *S. aureus* (cap. 13) y *Bacillus cereus* (cap. 11) producen **enterotoxinas** en los alimentos y aparecen náusea y vómito (y en menor magnitud, diarrea) unas cuantas horas después de ingerirlos. Los microorganismos que generan enterotoxinas afectan la zona proximal del intestino delgado y tienden a ocasionar **diarrea acuosa** (por ejemplo, *E. coli* enterotoxígena [cap. 15], y *Vibrio cholerae* [cap. 17]). Los agentes como los rotavirus, el virus de Norwalk (cap. 37) y *Giardia lamblia* (cap. 46), originan diarrea acuosa por un mecanismo de irritación o destrucción de la mucosa. Las bacterias invasoras o las que producen citotoxinas infectan el colon y ocasionan dolor abdominal, diarrea frecuente, a menudo con sangre y moco, fiebre y deshidratación, como ocurrió con los cuatro miembros de esta familia; el conjunto de signos y síntomas se llama **disentería**, y entre los microorganismos que la causan están salmonelas de muchos serotipos, shigelas, *Campylobacter jejuni* (cap. 17), *E. coli* enteroinvasiva, *Clostridium difficile* (cap. 11), y *E. histolytica* (cap. 46). La **fiebre intestinal** es una infección mortal que se caracteriza por fiebre, cefalea y síntomas abdominales variables; *Salmonella typhi* (cap. 15) (y también *Salmonella paratyphi* A y B, y *Salmonella choleraesuis*) y *Yersinia enterocolitica* (cap. 19) provocan fiebre intestinal. En el cuadro 48-4 se incluyen los agentes patológicos que a menudo causan gastroenteritis inducida por toxinas, infecciones gastrointestinales invasivas y no invasivas.

Las infecciones gastrointestinales son muy frecuentes, en particular en países en desarrollo, en donde el índice de mortalidad que ocasionan es elevado en lactantes y niños de corta edad. Es de suma importancia la prevención por medidas de salud pública que incluirían planes para reforzar la higiene satisfactoria y contar con abastos sanitarios de agua y alimentos.

Solamente en un porcentaje pequeño de casos se identifica el agente causal por medio de un coprocultivo o un inmunoensayo de heces.

La detección de leucocitos en preparaciones húmedas de heces sugiere fuertemente infección por un patógeno invasivo.

CUADRO 48-4 Agentes que con frecuencia causan gastroenteritis

Microorganismos	Periodo típico de incubación	Signos y síntomas	Aspectos epidemiológicos	Patogenia	Cuadro clínico	Capítulo
Staphylococcus aureus	1 a 8 h (en raras ocasiones incluso 18 h)	Náusea y vómito	Los estafilococos proliferan en carnes, productos lácteos y otros alimentos y producen enterotoxina	La enterotoxina actúa en los receptores intestinales que transmiten impulsos a los centros bulbares que controlan el vómito	Cuadro muy frecuente de comienzo repentino, con vómito intenso que dura incluso 24 h; la recuperación por lo común se observa en 24 a 48 h. Aparece en personas que consumen el mismo alimento. No se necesita tratamiento, salvo la restauración de líquidos y electrólitos	13
Bacillus cereus	2 a 16 h	Vómito y diarrea	El arroz frito recalentado es el vehículo frecuente	Enterotoxina formada en alimentos o en los intestinos, por proliferación de *B. cereus*	Con un periodo de incubación de 2 a 8 h, vómito predominantemente, pero si es de 8 a 16 h, diarrea como manifestación principal	11
Clostridium perfringens	8 a 16 h	Diarrea acuosa	Los clostridios prosperan en platillos de carne recalentados. Se ingieren números enormes	La enterotoxina se produce durante la esporulación del intestino; causa hipersecreción	La diarrea profusa comienza en forma repentina; el vómito es ocasional. La recuperación por lo común se presenta en 1 a 4 días, sin tratamiento. Identificación de innumerables clostridios en cultivos de alimentos y de heces de pacientes	11
Clostridium botulinum	18 a 24 h	Parálisis	*C. botulinum* prolifera en alimentos anaerobios y produce toxina	La toxina que se absorbe en los intestinos bloquea la acetilcolina en la unión neuromuscular	Diplopía, disfagia, disfonía y dificultad para respirar. El tratamiento incluye apoyo ventilatorio y administración de antitoxina. El diagnóstico se confirma al detectar la toxina en sangre o heces	11
Escherichia coli (enterotoxígena; ETEC)	24 a 72 h	Diarrea acuosa	La causa más frecuente de la "diarrea del viajero"	ETEC en los intestinos produce enterotoxina termolábil (HL) o termoestable (HS). Las toxinas[a] originan hipersecreción en el intestino delgado	La diarrea por lo común comienza en forma repentina y el vómito es raro. Infecciones graves en los neonatos. En adultos el trastorno cede por sí solo en cuestión de 1 a 3 días	9, 15
Escherichia coli (enteroinvasora; EIEC)	48 a 72 h	Disentería	Brotes ocasionales de disentería; causa poco frecuente de infección esporádica	Invasión inflamatoria de la mucosa del colon; es similar a la shigelosis. EIEC guarda gran semejanza con *Shigella*	Diarrea aguda sanguinolenta con malestar general, cefalea, fiebre alta y dolor abdominal. Enfermedad grave en niños desnutridos. En las heces hay leucocitos	9, 15
Escherichia coli (productora de la toxina de shiga; STEC)	24 a 72 h	Diarrea acuosa y sanguinolenta	La diarrea sanguinolenta surge con el consumo de carne molida mal cocida en restaurantes de comida rápida	STEC produce toxinas similares a la de Shiga. A menudo es el serotipo 0157:H7	Causa diarrea sanguinolenta, colitis hemorrágica, y la mayor parte de los casos de síndrome hemolítico urémico. El cultivo de heces intenta identificar *E. coli* sorbitol-negativa y el serotipo de microorganismos, con antisueros contra 0157:1-17. Es posible detectar otros serotipos por medio de la producción de la toxina y para ello se utilizan enzimoinmunoensayos que contienen anticuerpos contra las toxinas similares a las de Shiga	9, 15

(continúa)

CUADRO 48-4 Agentes que con frecuencia causan gastroenteritis (*Continuación*)

Microorganismos	Periodo típico de incubación	Signos y síntomas	Aspectos epidemiológicos	Patogenia	Cuadro clínico	Capítulo
Escherichia coli (enteropatógena, EPEC)	Comienzo lento	Diarrea acuosa	Causa frecuente de diarreas en neonatos en países en desarrollo. Básicamente es la causa de diarrea epidémica en salas de cunas de recién nacidos y causa cifras altas de mortalidad; es menos frecuente ahora en países desarrollados	EPEC se fija a las células epiteliales de la mucosa y produce cambios en su citoesqueleto; puede invadir células. Es diferente de otras *E. coli* que son enteroadherentes o enteroagregadas y causan diarrea	Comienzo insidioso en un lapso de 3 a 6 días con inquietud, inapetencia y diarrea. El cuadro suele durar 5 a 15 días. La deshidratación, el desequilibrio de electrólitos y otras complicaciones pueden causar la muerte. Es importante la administración de antimicrobianos	9, 15
Vibrio parahaemolyticus	6 a 96 h	Diarrea acuosa	Los microorganismos proliferan en mariscos y en el intestino producen toxina o lo invaden	La toxina ocasiona secreción excesiva. Los vibriones invaden el epitelio; las heces pueden ser sanguinolentas	Diarrea de comienzo repentino en los grupos que consumieron el mismo alimento, en particular cangrejos y otros mariscos. El sujeto se recupera por lo común completamente en cuestión de 1 a 3 días. Los cultivos de alimentos y heces son positivos	17
Vibrio cholerae	24 a 72 h	Diarrea acuosa	Los microorganismos proliferan en el intestino y producen toxina	La toxina[a] ocasiona hipersecreción en el intestino delgado. La dosis infectante es mayor de 10^5 microorganismos	Diarrea líquida de comienzo repentino en zonas endémicas. Se necesita la reposición inmediata de líquido y electrólitos por vía IV u oral. Los cultivos de heces son positivos. Se necesita usar medios selectivos	9, 18
Especies de *Shigella* (casos leves)	24 a 72 h	Disentería	Los microorganismos proliferan en el epitelio intestinal superficial	Los microorganismos invaden células epiteliales; hay sangre, moco y PMN en las heces. La dosis infectante es menor de 10^3 microorganismos	Diarrea de comienzo repentino; puede haber sangre y pus en heces; cólicos, tenesmo y letargo. Leucocitos en heces. Los cultivos de heces son positivos. Es un cuadro que a menudo es de poca intensidad y cede por sí solo. Se necesita la reposición de líquidos	15
Shigella dysenteriae tipo 1 (bacilo de shiga)	24 a 72 h	Disentería, diarrea sanguinolenta	Causa brotes en países en desarrollo	Produce citotoxina y neurotoxina	Diarrea sanguinolenta profusa en niños en países en desarrollo; la cifra alta de mortalidad es rara en Estados Unidos	15
Especies de *Salmonella*	8 a 48 h	Disentería	Los microorganismos proliferan en el intestino; no producen toxina	Infección superficial del intestino, escasa invasión. La dosis infectante es mayor de 10^5 microorganismos	Diarrea de comienzo gradual o repentino y febrícula. Leucocitos en las heces. Los coprocultivos son positivos. No se necesitan los antimicrobianos, salvo que se sospeche diseminación generalizada o la persona sea inmunodeprimida. El estado de portador prolongado es frecuente	15
Salmonella typhi (*S. paratyphi* A y B; *S. choleraesuis*)	10 a 14 días	Fiebre intestinal	Los humanos constituyen el único reservorio de *S. typhi*	El microorganismo invade la mucosa intestinal y se multiplica en los macrófagos y en los folículos linfáticos de intestinos; penetra en las glándulas linfáticas mesentéricas y de ahí a la sangre y se disemina	Comienzo insidioso con malestar general, anorexia, mialgias y cefalea; fiebre alta remitente; puede haber estreñimiento o diarrea. En cerca de la mitad de los enfermos hay hepatoesplenomegalia. El diagnóstico se hace por cultivo de *S. typhi* de sangre, heces o material de otros sitios. La antibioticoterapia es importante	15

Yersinia enterocolitica	4 a 7 días	Fiebre intestinal	Transmisión fecal-oral. Microorganismo transportado por alimentos. Animales infectados	Gastroenteritis o adenitis mesentérica. Ocasionalmente bacteriemia. También a veces produce toxina	Dolor abdominal, diarrea y fiebre intensos; presencia de PMN y sangre en las heces; poliartritis, eritema nudoso especialmente en niños; es importante conservar la muestra de heces a 4°C antes de cultivarla	19
Clostridium difficile	Días o semanas después de antibioticoterapia	Disentería	Colitis seudomembranosa después de uso de antibióticos	Elabora enterotoxina (toxina A) y citotoxina (toxina B) que causan diarrea y necrosis de células epiteliales	La diarrea y la fiebre comienzan repentinamente. Presencia de la toxina en las heces. En el caso típico el paciente recibió días o semanas antes antibióticos	11
Campylobacter jejuni	2 a 10 días	Disentería	Infección vía oral después de la ingestión de alimentos o el contacto de mascotas. Los microorganismos proliferan en el intestino delgado	Invasión de la mucosa. No hay certeza en la producción de toxina	Fiebre, diarrea; PMN y sangre fresca en las heces, particularmente en niños. El cuadro por lo común cede por sí solo. Se necesitan medios especiales para cultivos a 42°C. Los pacientes por lo común se recuperan en un lapso de 5 a 8 días	17
Rotavirus	48 a 96 h	Diarrea acuosa, vómito y febrícula	El virus es la causa principal del cuadro diarreico en lactantes y niños de corta edad, a nivel mundial	Induce cambios histopatológicos de células de la mucosa intestinal	Antes del cuadro abdominal y la diarrea surge fiebre y vómito. La muerte de lactantes en países en desarrollo se presenta después de deshidratación y desequilibrio electrolítico. La evolución típica es de 3 a 9 días. El diagnóstico se hace al detectar en un inmunoensayo el antígeno de rotavirus en heces	37
Norovirus	24 a 48 h	Diarrea acuosa y vómito	Causa principal de diarrea epidémica en particular en situaciones cerradas como sería el crucero en naves; índice de ataque secundario grande	Induce cambios histopatológicos en la mucosa intestinal, como el aplanamiento de microvellosidades	Dolor abdominal de comienzo repentino. Náusea, vómito y diarrea. Puede haber febrícula; se han descrito malestar general, mialgias y cefalea. La evolución típica es de 2 a 3 días. En el diagnóstico se necesita RT- PCR y otras técnicas que no se practican frecuentemente	37
Giardia lamblia	1 a 2 semanas	Diarrea acuosa	Parásito intestinal identificado con mayor frecuencia. Patógeno frecuente en brotes de diarrea de origen hídrico	Interacción compleja y poco comprendida del parásito con células de la mucosa y la reacción inmunitaria del enfermo	La diarrea termina por ceder en cuestión de 1 a 3 semanas; los síntomas crónicos de diarrea intermitente, absorción deficiente y adelgazamiento pueden persistir 6 meses. El diagnóstico se hace al detectar trofozoítos o quistes en heces o contenido duodenal o por medio de detección del antígeno de *Giardia lamblia* en inmunoensayo de heces	46
Entamoeba histolytica	Comienzo gradual, en un lapso de 1 a 3 semanas	Disentería	Prevalencia máxima en países en desarrollo; 10% de la población mundial puede estar infectada con el microorganismo	Invade la mucosa del colon y ocasiona lisis de células, incluidos los leucocitos	Son frecuentes diarrea, dolor abdominal, adelgazamiento y fiebre. El trastorno puede ocasionar innumerables alteraciones, que incluyen colitis fulminante, perforación y absceso de hígado. El diagnóstico se confirma al detectar trofozoítos o quistes en las heces	46

[a]La toxina del cólera y la toxina de *E. coli* termolábil estimulan la actividad de la adenilil ciclasa, por lo cual aumenta la concentración de cAMP en el intestino, de tal forma que se desencadena la secreción de cloruro y agua y disminuye la reabsorción de sodio. La toxina termoestable de *E. coli* activa la guanilil ciclasa de intestino y ocasiona hipersecreción.

Mantener una hidratación adecuada es uno de los elementos de mayor importancia del tratamiento, particularmente en lactantes y en niños. Para tratar la fiebre intestinal (**fiebre tifoidea**) se necesitan antimicrobianos y con ellos se acorta la duración de los síntomas en las infecciones por *Shigella, Campylobacter* y *V. cholerae,* pero prolonga los síntomas y la diseminación fecal de *Salmonella*.

No existe tratamiento específico contra la infección por rotavirus, que constituye la causa más común de diarrea viral.

REFERENCIAS

Clark B, McKendrick M: A review of viral gastroenteritis. Curr Opin Infect Dis 2004;17:461.

Guerrant RL et al: Practice guidelines for the management of infectious diarrhea. Clin Infect Dis 2001;32:331.

Guerrant RL, Bobak DA: Bacterial and protozoal gastroenteritis. N Engl J Med 1991;325:327.

Marcos LA, Dupont HL: Advances in defining etiology and new therapeutic approaches in acute diarrhea. J Infect 2007;55:385.

Patel MM, Hall AJ, Vinje J, Parashar UD: Noroviruses: A comprehensive review. J Clin Virol 2009;44:1.

VÍAS URINARIAS

CASO 8: INFECCIÓN VESICAL AGUDA SIN COMPLICACIONES

Una mujer de 21 años acudió a la enfermería de una universidad con el antecedente de que en los dos días anteriores aumentó su frecuencia de micciones, junto con urgencia y disuria. Unas 12 h antes su orina tenía color rosa o sanguinolento. No existía el antecedente de alguna infección del aparato urinario. En fecha reciente había iniciado su actividad sexual y utilizaba un diafragma y un espermicida.

Cuadro clínico

La temperatura fue de 37.5°C, su pulso de 105 latidos/min y 18 respiraciones por minuto. Su presión arterial fue de 105/70 mmHg.

En la exploración física el único signo anormal fue el dolor leve a la palpación profunda en el área suprapúbica.

Datos de laboratorio

En los métodos de laboratorio practicados se observó un incremento moderado en el número de leucocitos, que fue de 13 000/μl; de ellos, 66% fueron PMN, cifra también alta. Fueron normales otras sustancias como el nitrógeno de urea sanguínea, la creatinina y la glucosa sérica y los electrólitos en suero. El sedimento urinario incluyó innumerables leucocitos, un número moderado de eritrocitos y muchas bacterias, todo lo cual sugería infección de las vías urinarias. En el cultivo se identificaron más de 10^5 unidades formadoras de colonias (CFU, *colony-forming units*)/ml de *E. coli* (signo diagnóstico de infección de las vías urinarias); no se practicaron antibiogramas.

Tratamiento

Bastaron tres días de ingestión de sulfametoxazol/trimetoprim para que la paciente curara.

Comentario

Véase adelante.

CASO 9: INFECCIÓN COMPLICADA DE LAS VÍAS URINARIAS

Un varón de 67 años presentó fiebre y choque tres días después de la resección transuretral de próstata hipertrófica. Dos semanas antes había tenido obstrucción urinaria y retención como consecuencia de la hipertrofia, y se diagnosticó hipertrofia prostática benigna. No fue necesario colocar una sonda vesical. Después de la cirugía se dejó una sonda a permanencia en la vejiga, unida a un sistema de drenaje cerrado. Dos días después de la operación el paciente presentó fiebre que llegó a 38°C; en el tercer día posoperatorio tuvo confusión, desorientación y escalofrío con estremecimiento.

Cuadro clínico

La temperatura fue de 39°C, el pulso de 120 latidos/min y 24 respiraciones/min. La presión arterial fue de 90/40 mmHg.

En la exploración física el paciente mencionó su nombre, pero mostraba desorientación en tiempo y lugar. Su corazón, pulmones y abdomen se encontraban normales. Se observó un leve dolor a la palpación costovertebral en el área del riñón izquierdo.

Datos de laboratorio

En las pruebas de laboratorio se observó que eran normales el hematócrito y la hemoglobina, pero hubo un incremento en el número de leucocitos, de 18 000/μl; de ellos, 85% fueron PMN (muy elevado). Fueron normales el nitrógeno de urea sanguínea, la creatinina y la glucosa sérica y los electrólitos. Se obtuvo orina del orificio de la sonda, utilizando una jeringa con aguja. El sedimento de la orina contenía innumerables leucocitos, unos cuantos eritrocitos, y numerosas bacterias, lo cual denotó que

había una infección de vías urinarias. En el cultivo de orina se identificaron más de 10^5 CFU/ml de *K. pneumoniae* (cap. 15), y ello corroboró el diagnóstico de infección de vías urinarias. En el hemocultivo también se identificó el mismo microorganismo, que resultó susceptible a las cefalosporinas de tercera generación, gentamicina y tobramicina.

Tratamiento y evolución hospitalaria

El paciente tenía infección de vías urinarias, que surgió por la presencia de la sonda vesical. Se supuso que había afectación del riñón izquierdo, por el dolor a la palpación en el ángulo costovertebral izquierdo. Mostraba también bacteriemia secundaria con choque (se denomina a veces septicemia por gramnegativos y choque). Recibió soluciones y antibióticos por vía intravenosa y se recuperó. Se había aislado la misma cepa de *K. pneumoniae* de otros pacientes en el hospital, y ello indicó que hubo diseminación intrahospitalaria de la bacteria.

Comentario

Las infecciones de vías urinarias pueden abarcar la porción inferior de ella y además la zona superior. **Cistitis** es el término que se utiliza para describir la infección de la vejiga, con signos y síntomas como disuria, urgencia y poliaquiuria, como en el Caso 8. **Pielonefritis** es el término que se utiliza para describir la infección de vías altas, a menudo con dolor espontáneo y a la palpación en el costado, y además, disuria, urgencia y poliaquiuria, como en el Caso 9. Los dos cuadros mencionados aparecen en forma aguda pero a menudo se observan infecciones recurrentes o crónicas.

Suele aceptarse que detectar 10^5 o más de CFU/ml de orina denota bacteriuria importante, tengan o no síntomas los pacientes. Algunas mujeres jóvenes tienen disuria y otros síntomas de cistitis con menos 10^5 CFU/ml de orina, y en ellas, 10^3 CFU/ml de un bacilo gramnegativo puede denotar bacteriuria notable.

La prevalencia de bacteriurias es de 1 a 2% en niñas en edad escolar; 1 a 3% en mujeres no embarazadas y de 3 a 8% en las embarazadas; la prevalencia de bacteriuria aumenta con la edad, y la proporción de infecciones entre ambos géneros prácticamente se iguala. Después de los 70 años de vida, 20 a 30% o más de las mujeres y 10% o más de los varones tienen bacteriuria. Las infecciones de las vías urinarias altas aparecen sistemáticamente en personas que tienen sondas vesicales a permanencia, incluso si se brinda atención óptima y se usan sistemas de drenaje cerrado: 50% después de 4 o 5 días; 75% después de 7 o 9 días y 100% después de dos semanas. La actividad sexual y el uso de espermicidas agrava el riesgo de las infecciones de vías urinarias (UTI, *urinary tract infection*).

E. coli (cap. 15) causa 80 a 90% de las infecciones agudas bacterianas no complicadas de vías urinarias bajas (cistitis) en mujeres jóvenes. Otras bacterias intestinales y *Staphylococcus saprophyticus* (cap. 13) ocasionan la mayor parte de otras infecciones vesicales con positividad en los cultivos en dicho grupo de pacientes. Algunas mujeres jóvenes con disuria aguda que sugiere cistitis no muestran bacterias en sus cultivos de orina y en ellas habrá que pensar en cultivos selectivos para identificar *Neisseria gonorrhoeae* (cap. 20), y *Chlamydia trachomatis* (cap. 27) y búsqueda de una infección por herpes simple.

En caso de infecciones complicadas de vías urinarias altas en el contexto de una anormalidad anatómica o de sondeo por largo tiempo, el número de bacterias infectantes es mucho mayor que en los casos no complicados. A menudo se identifica *E. coli,* pero también es frecuente identificar otros bacilos gramnegativos de muchas especies [como *Klebsiella, Proteus* y *Enterobacter* (cap. 15) y seudomonas (cap. 16)], enterococos y estafilococos. En muchos casos coexisten dos especies o más, y las bacterias suelen ser resistentes a los antimicrobianos que se administran junto con las medidas primarias.

La presencia de leucocitos en la orina es muy sugestiva pero no específica de infecciones bacterianas de las vías urinarias altas. Los leucocitos se detectan por estudio microscópico del sedimento de orina, o de forma indirecta por detección de esterasa leucocítica con una tira reactiva. Los eritrocitos a veces se identifican en el estudio microscópico del sedimento urinario o en forma indirecta por detección de hemoglobina con una tira reactiva. Con ella también se identifica proteinuria. La presencia de bacterias en una muestra de orina no centrifugada y teñida con técnica de Gram sugiere la existencia de 10^5 bacterias o más por mililitro de orina.

La presencia de la bacteriuria se confirma por el cultivo cuantitativo de orina, por alguno de diversos métodos; uno de los más usados es el cultivo de orina con un asa bacteriológica calibrada para liberar 0.01 o 0.001 ml, seguido del recuento del número de las colonias que proliferan.

La cistitis aguda no complicada suele ser causada por *E. coli* susceptible a concentraciones de antibióticos que se pueden alcanzar fácilmente en la orina, adecuados para tratar las infecciones de las vías urinarias; de este modo, dentro de un marco de la primera infección de ese tipo en una mujer joven, rara vez se necesita la identificación definitiva y pruebas de susceptibilidad de las bacterias. Tales casos se pueden tratar con una sola dosis de un antibiótico apropiado, pero con tres días de terapia se obtiene una cifra menor de recidivas. La pielonefritis se trata con antibioticoterapia durante 10 a 14 días y las infecciones recidivantes o complicadas de las vías urinarias altas se tratan mejor con antibióticos que son activos contra las bacterias infectantes; están indicadas la identificación definitiva y las pruebas de susceptibilidad. El tratamiento durante 14 días es adecuado, y durante 14 a 21 días si se advierte recidiva. Las personas con infecciones complicadas de las vías urinarias altas deben ser sometidas a estudios en busca de anormalidades anatómicas, cálculos y otras alteraciones.

REFERENCIAS

Foster RT Sr: Uncomplicated urinary tract infections in women. Obstet Gynecol Clin North Am 2008;35:235.

Neal DE Jr: Complicated urinary tract infections. Urol Clin North Am 2008;35:13.

HUESOS Y TEJIDOS BLANDOS

CASO 10: OSTEOMIELITIS

Un varón de 34 años presentó fractura expuesta del tercio medio de la tibia y el peroné cuando la trimoto en que viajaba se desvió y le cayó encima. Fue llevado al hospital e inmediatamente al quirófano. En él se limpió y desbridó la herida, se redujo la fractura y se alinearon los huesos. Se colocaron placas metálicas para cubrir la solución de continuidad, y así lograr alineación y fijación de la zona. Se colocaron clavos a través de la piel y los huesos en sentidos proximal y distal a la fractura, para permitir la inmovilización de la zona y de la pierna. Un día después de la operación se observó que persistía notable hinchazón de la pierna y en los apósitos había un volumen pequeño de drenaje seroso. Dos días más tarde, persistieron la hinchazón y el rubor, lo cual obligó a abrir la herida quirúrgica. En los cultivos del pus de la herida se identificó *S. aureus* (cap. 13) resistente a la penicilina G, pero susceptible a la nafcilina. El paciente recibió dicho antibiótico por vía intravenosa durante 10 días y aminoraron la hinchazón y el rubor. Tres semanas más tarde comenzó a salir pus de un pequeño orificio en la herida. En los cultivos se identificó de nuevo *S. aureus*. La exploración del orificio indicó que se había formado un trayecto fistuloso en el sitio de la fractura. La radiografía de la pierna indicó alineamiento defectuoso de la fractura. Se hizo el diagnóstico de osteomielitis y se llevó de nuevo al quirófano al paciente, en el cual se desbridó el sitio de fractura y se eliminaron tejidos blandos y hueso necróticos; se extrajeron los clavos y las placas y se colocaron injertos de hueso. Por medio de fijación externa se inmovilizó la fractura. Los cultivos de material obtenido durante la operación indicaron la presencia de *S. aureus*. El paciente recibió nafcilina intravenosa durante un mes y después dicloxacilina por vía oral por tres meses más. La herida y la fractura curaron lentamente. Después de seis meses en las radiografías no se identificaron signos de osteomielitis persistente y el paciente pudo soportar peso sobre la pierna.

Comentarios

La osteomielitis es consecuencia de la **diseminación hemática** de bacterias patógenas de un punto distante de infección, al hueso, o como en el caso del paciente, por inoculación directa del hueso y tejidos blandos, como ocurre en las fracturas expuestas o de un sitio vecino en que hay infección de tejidos blandos. Los principales síntomas son fiebre y dolor en el sitio infectado, aunque a veces se detecta hinchazón, rubor y expulsión ocasional de líquido de drenaje, pero los signos físicos dependen netamente del sitio anatómico de la infección. Por ejemplo, la osteomielitis de la columna puede tener como manifestaciones iniciales fiebre, dorsalgia y signos de un absceso pararraquídeo; la infección de la cadera se manifiesta por fiebre y dolor con los movimientos y un menor arco de movilidad. En los niños, puede ser repentino el comienzo de la osteomielitis después de la propagación hemática de bacterias, en tanto que en adultos el inicio puede ser más indolente. A veces se considera que la osteomielitis es crónica y ha durado largo tiempo, pero sus manifestaciones clínicas son muy diversas y no es fácil diferenciar entre una variante aguda y otra crónica sobre bases clínicas o el estudio morfológico del tejido.

S. aureus (cap. 13) es el agente principal que causa osteomielitis en 60 a 70% de los casos (90% en niños); origina la infección después de la diseminación hemática o después de la inoculación directa. *S. aureus* es resistente a la meticilina extrahospitalario, que contiene la leucocidina de Panton-Valentine, causa osteomielitis hemática aguda que afecta múltiples sitios y que se acompaña a menudo de complicaciones vasculares. Los estreptococos causan osteomielitis en 10% de los casos, aproximadamente, y los bacilos gramnegativos intestinales (como *E. coli*) y otras bacterias como *P. aeruginosa* (cap. 16), la causan en 20 a 30% de los enfermos. En lactantes y en niños un agente etiológico frecuente es *Kingella kingae* (cap. 16). También es frecuente identificar bacterias anaerobias (como las especies de *Bacteroides* [cap. 21]), particularmente en la osteomielitis de los huesos de los pies, que aparece a veces con la diabetes y úlceras de esas zonas. Cualquier bacteria que cause infecciones en los humanos puede originar osteomielitis.

Para el diagnóstico definitivo de la causa de la osteomielitis se necesita cultivar una muestra obtenida durante una operación o por la aspiración de hueso o periostio por medio de aguja que atraviese el tejido blando no infectado. En el cultivo del pus del orificio de una fístula húmeda o de una herida superficial que aparece con la osteomielitis se identifican frecuentemente bacterias que no se detectan en el hueso. Los hemocultivos suelen arrojar resultados positivos cuando existen signos y síntomas generales (fiebre, adelgazamiento, leucocitosis, y aceleración de la velocidad de eritrosedimentación).

En los comienzos de la osteomielitis las radiografías del sitio infectado son negativas. Los primeros signos que aparecen en ellas por lo común son hinchazón de tejidos blandos, pérdida de planos hísticos y desmineralización de huesos; dos a tres semanas después del comienzo aparecen erosiones en los huesos y manifestaciones de periostitis. Los gammagramas óseos con radionúclidos tienen una sensibilidad aproximada de 90%; comienzan a mostrar signos positivos pocos días después del comienzo del cuadro, y son particularmente útiles para localizar el sitio de la infección y saber si hay múltiples zonas infectadas; sin embargo, por medio de tal técnica no se puede diferenciar entre fracturas, infarto óseo (como ocurre en la drepanocitosis) e infecciones. La CT y la MRI también son sensibles y en especial son útiles para determinar la extensión de la afectación del tejido blando.

Los elementos básicos del tratamiento de la osteomielitis son la administración de antimicrobianos y el desbridamiento quirúrgico. El antimicrobiano específico debe seleccionarse después de contar con los resultados del cultivo de una muestra obtenida de manera apropiada y las pruebas de susceptibilidad, y se continuarán durante seis a ocho semanas o más, según la infección. La cirugía debe practicarse para extirpar el hueso desvitalizado y secuestros que aparecen en estos casos. Parte importante de la atención es inmovilizar las extremidades infectadas y fijar las fracturas.

REFERENCIAS

Calhoun JH, Manring MM: Adult Osteomyelitis. Infect Dis Clin N Amer 2005;19:265.

Kaplan SL: Osteomyelitis in children. Infect Dis Clin N Amer 2005;19:787.

CASO 11: GANGRENA GASEOSA

Un varón de 22 años se cayó al viajar en una motocicleta nueva y presentó fractura expuesta del fémur izquierdo y graves desgarros con lesiones por aplastamiento del muslo y otras menos extensas en tejidos blandos de diversas zonas corporales. Fue transportado inmediatamente al hospital y de inmediato lo llevaron al quirófano en donde se redujo la fractura y se desbridaron las heridas. En la hospitalización los resultados de la biometría hemática incluyeron hematócrito de 45% y concentración de hemoglobina de 15 g/100 ml. La evolución en el posoperatorio inmediato no tuvo incidentes, pero 24 horas más tarde surgió dolor en el muslo y se identificó fiebre. El dolor y la hinchazón del muslo aumentaron rápidamente.

Cuadro clínico y evolución

El paciente tuvo temperatura de 40°C, pulso de 150 latidos/min y 28 respiraciones/min. Su presión arterial fue de 80/40 mmHg.

En la exploración física se observó que se trataba de un varón joven con un cuadro agudo y grave, en choque y delirio. El muslo izquierdo presentaba inflamación intensa y se percibía frío. Cerca de la herida se detectaron grandes áreas equimóticas y de ella manaba una secreción serosa. Se palpó crepitación, que denotaba la presencia de gas en los tejidos del muslo, signos que corroboró una radiografía, en que se detectó gas en los planos hísticos de la zona. Se hizo el diagnóstico de gangrena gaseosa y el paciente fue llevado al quirófano para un desbridamiento extenso de urgencia del tejido necrótico. En el momento de la operación su hematócrito había disminuido a 27% y su hemoglobina a 11 g/100 ml; el suero era de color rojo pardusco, lo cual denotaba hemólisis, con hemoglobina libre en su torrente circulatorio. En los cultivos en busca de anaerobios de la muestra obtenida en la operación proliferó *Clostridium perfringens* (caps. 11, 21). El enfermo desarrolló insuficiencia renal y cardiaca y falleció tres días después de la lesión.

Comentario

El Caso 11 es un ejemplo del cuadro clásico de gangrena gaseosa por clostridios. En la herida por traumatismo se inocula *C. perfringens* (o a veces otras especies de clostridios) del ambiente; las características de dichos microorganismos se expusieron en los capítulos 11 y 21. El tejido necrótico y los cuerpos extraños constituyen un entorno idóneo para la proliferación de anaerobios. Después de un periodo de incubación que por lo general es de dos a tres días, pero a veces sólo de 8 a 12 h, el dolor comienza en forma aguda e inmediata, que se intensifica rápidamente y surgen choque y delirio. La extremidad o la herida presentan dolor a la palpación, inflamación a tensión y una secreción serosanguinolenta. A menudo se palpa crepitación. La piel cerca de la herida está pálida, pero rápidamente muestra discromías en zonas cercanas se forman ampollas llenas de líquido. Aparecen zonas cutáneas de necrosis oscura y en casos graves se advierte evolución rápida.

En pacientes como los del caso expuesto, la tinción de Gram del líquido de una vesícula o del aspirado hístico muestra grandes bacilos grampositivos con extremos romos, que sugieren fuertemente una infección por clostridios. Pocas veces se detectan PMN. La confirmación definitiva del laboratorio se obtiene con el cultivo anaerobio. Entre las entidades por incluir en el diagnóstico diferencial de la gangrena gaseosa por clostridios están la mionecrosis estreptocócica anaerobia, la mionecrosis necrosante sinérgica y la fascitis necrosante. Estas enfermedades con varios puntos de semejanza clínica se diferencian de la gangrena gaseosa por clostridios por medio de la tinción de Gram y cultivos de muestras adecuadas.

Las radiografías de la zona infectada indican la presencia de gas en planos aponeuróticos. Entre las anormalidades en las pruebas de laboratorio están el hematócrito bajo. La hemoglobina puede mostrar un resultado bajo o normal incluso si el hematócrito es bajo, y ello es consistente con hemólisis y la presencia de hemoglobina circulante acelular. Suele haber leucocitosis.

La cirugía extensa con extirpación de todo el tejido necrótico infectado es un recurso necesario para salvar la vida. El antibiótico más indicado es la penicilina G. No es útil la antitoxina. Una vez que surge el choque y aparece en la circulación hemoglobina libre, surgen a menudo insuficiencia renal y otras complicaciones y el pronóstico es malo.

ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL

CASO 12: URETRITIS, ENDOCERVICITIS Y ENFERMEDAD INFLAMATORIA PÉLVICA

Una mujer de 19 años acudió a la clínica por mostrar dolor en hipogastrio que había durado dos días, y una secreción vaginal amarillenta, que surgió cuatro días antes, un día después del último día de su menstruación. Había tenido relaciones sexuales con dos compañeros el mes anterior, incluida una nueva pareja 10 días antes de acudir a la clínica.

Cuadro clínico

La temperatura de la paciente era 37.5°C y los demás signos vitales eran normales. En la exploración física se observó una secreción mucopurulenta amarillenta que salía del orificio cervicouterino. A la palpación hubo moderado dolor en el cuadrante inferior izquierdo del abdomen. La exploración pélvica bimanual indicó dolor con la movilización del cuello uterino y dolor en los anexos más intenso en el lado izquierdo que en el derecho.

Datos de laboratorio

No se identificó *M. gonorrhoeae* en el cultivo del endocérvix (cap. 20), pero sí se identificó *C. trachomatis* (cap. 27).

Tratamiento

Se hizo el diagnóstico de enfermedad inflamatoria pélvica (PID, *pelvic inflammatory disease*). La paciente fue tratada con un esquema ambulatorio, con una sola dosis de ceftriaxona más doxiciclina durante dos semanas. Sus compañeros acudieron a la clínica y recibieron tratamiento.

Comentario

En los varones la secreción uretral se clasifica como **uretritis gonocócica**, causada por *N. gonorrhoeae*, o **uretritis no gonocócica** causada por *C. trachomatis* (15 a 55% de los casos), o por *Ureaplasma urealyticum* (20 a 40% de los casos) y en pocas ocasiones por *Trichomonas vaginalis* (cap. 46). El diagnóstico se basa en la presencia o ausencia de diplococos gramnegativos intracelulares en la secreción uretral teñida. Es importante estudiar a todo sujeto con uretritis, y para ello usar métodos de amplificación de ácido nucleico en busca de *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*. La ceftriaxona se usa frecuentemente para tratar la uretritis gonocócica, pero cabe recurrir a quinolonas en regiones en que se ha señalado poca resistencia del microorganismo. La doxiciclina o la azitromicina se utilizan para combatir la uretritis no gonocócica, y se recomienda ampliamente que los casos de varones con infección gonocócica también reciban tratamiento para infección por clamidias por la posibilidad de que coexistan ambos cuadros infecciosos.

En las mujeres, el diagnóstico diferencial de **endocervicitis** (**cervicitis mucopurulenta**) debe establecerse entre la gonorrea y la infección por *C. trachomatis*. El diagnóstico se confirma por cultivo de la secreción endocervical o por medio de estudios de amplificación de ácido nucleico de *N. gonorrhoeae* y métodos moleculares para el diagnóstico de *C. trachomatis*. Se plantean tres grandes opciones terapéuticas: 1) tratar los cuadros producidos por *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis* antes de contar con los resultados del cultivo; 2) tratar únicamente el cuadro de *C. trachomatis* si es pequeña la prevalencia de infecciones por *N. gonorrhoeae*, pero es grande la posibilidad de una infección por clamidias, o 3) esperar que lleguen los resultados de cultivo, si es pequeña la prevalencia de las dos enfermedades y es grande la posibilidad de que el paciente cumpla con la recomendación de una visita de seguimiento. Los tratamientos recomendados son iguales a los que mencionamos en párrafos anteriores contra la uretritis.

La **enfermedad inflamatoria pélvica** (**PID**), también recibe el nombre de **salpingitis**, que es la inflamación del útero, las trompas y los anexos que no está relacionada con cirugía ni embarazo. La PID es la principal consecuencia de infecciones endocervicales por *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis* y más de la mitad de los casos son causados por alguno de dichos microorganismos, o por ambos. La incidencia de PID gonocócica es alta en zonas de bajos recursos, en tanto que la PID por clamidias es más frecuente en estudiantes universitarias y clases más solventes desde el punto de vista económico. Otras bacterias que suelen intervenir como causa de PID son las intestinales y los anaerobios vinculados con la vaginosis bacteriana. El síntoma inicial frecuente es el dolor en el hipogastrio. También se observan a menudo secreción vaginal anormal, hemorragia uterina, disuria, dispareunia, náusea y vómito, y fiebre. La principal complicación de la PID es la infertilidad por oclusión de las trompas uterinas; se ha calculado que 8% de las mujeres se tornan infértiles después de un episodio de PID; 19.5% después de dos episodios y 40% después de tres o más episodios. Hay que pensar en PID como diagnóstico clínico en toda mujer en edad reproductiva, que tenga dolor pélvico. Las pacientes suelen mostrar los clásicos signos físicos además de las manifestaciones iniciales, incluidos dolor del hipogastrio, con el desplazamiento del cuello uterino y en los anexos. El diagnóstico clínico se confirma por visualización laparoscópica del útero y las trompas, procedimiento que no es práctico y se realiza poco; sin embargo, en promedio, 33% de las mujeres con el diagnóstico clínico de PID también mostrarán ataque de trompas y útero cuando se visualicen. El diagnóstico diferencial incluye embarazo ectópico y apendicitis, y otras enfermedades. En mujeres con PID se recomienda la hospitalización con tratamiento intravenoso para disminuir la posibilidad de infertilidad. Los regímenes medicamentosos intrahospitalarios incluyen cefoxitina y doxiciclina o gentamicina y clindamicina. Los esquemas ambulatorios comprenden dosis únicas de cefoxitina o ceftriaxona más doxiciclina, o la combinación de ofloxacina y metronidazol.

REFERENCIAS

Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. MMWR, Morb Mortal Wkly Rep 2002;51:1.

Lareau SM, Beigi RH: Pelvic inflammatory disease and tubo-ovarian abscess. Infect Dis Clin North Am 2008;22:693.

Trigg BG, Kerndt PR, Aynalem G: Sexually transmitted infections and pelvic inflammatory disease in women. Med Clin North Am 2008;92:1083.

CASO 13: VAGINOSIS Y VAGINITIS

Una mujer de 28 años acudió a la clínica por mostrar una secreción vaginal blanquecina-grisácea fétida, que percibió por primera vez seis días antes. Había tenido actividad sexual con un solo compañero, que comenzó su relación con ella en el mes anterior.

Cuadro clínico

En la exploración física se detectó una secreción blanquecina-gris, homogénea y acuosa, adherida a la pared vaginal. No hubo secreción del orificio cervical. Los datos de la exploración ginecológica bimanual fueron normales y también lo fue el resto de la exploración física.

Datos de laboratorio

El pH del líquido que salía de la vagina fue de 5.5 (normal, <4.5). Al agregar hidróxido de potasio en una laminilla se percibió un

olor semejante a amoniaco (olor "a pescado"). En la preparación húmeda del líquido se identificaron muchas células epiteliales con bacterias adheridas (células clave). No se detectaron PMN. El diagnóstico fue de vaginosis bacteriana.

Tratamiento

Con la administración de metronidazol dos veces al día durante siete días, el trastorno desapareció rápidamente. Se tomó la decisión de no tratar a su compañero sexual, salvo que en ella reapareciera la vaginosis.

Comentario

Es necesario diferenciar la vaginosis bacteriana de la secreción vaginal normal, de la vaginitis por *T. vaginalis* y de la vulvovaginitis por *C. albicans* (cuadro 48-5). Las enfermedades mencionadas son muy frecuentes y afectan en promedio a 20% de las mujeres que acuden a atención ginecológica. La mayoría de las mujeres tiene como mínimo un episodio de vaginitis o vaginosis durante la edad reproductiva.

La vaginosis bacteriana recibe su nombre porque en la secreción de la vagina no se detectan PMN, es decir, el cuadro no es inflamatorio. En los casos que surgen con la infección por *Gardnerella vaginalis* (cap. 22), disminuye el número de los lactobacilos de la flora vaginal normal y se alcaliniza el pH de la vagina. Como signo concomitante surge proliferación excesiva de *G. vaginalis*, y de bacterias anaerobias vaginales, con lo cual la secreción tiene un olor a amoniaco. Además de *G. vaginalis*, en la vaginosis bacteriana se han identificado bacilos gramnegativos curvos del género *Mobiluncus* que se pueden identificar en la secreción vaginal teñida por el método de Gram.

T. vaginalis (cap. 46) es un protozoo flagelado. La **vaginitis** por *T. vaginalis* se diagnostica mejor por medio de una preparación húmeda del líquido vaginal en la cual se identifican tricomonas móviles de tamaño un poco mayor que el de los PMN. En un medio frío las tricomonas pierden su movimiento y por ello es mejor utilizar solución salina (37°C), laminillas y cubreobjetos a temperatura corporal cuando se elaboren las preparaciones húmedas, y examinarlas inmediatamente.

La **vulvovaginitis por *Candida*** suele aparecer después de la antibioticoterapia contra alguna infección bacteriana. Los antibióticos disminuyen la flora genital normal y con ello permiten que proliferen levaduras y produzcan síntomas. Por esa razón, la vulvovaginitis por *Candida* no constituye realmente una enfermedad de transmisión sexual.

REFERENCIAS

Wendel KA, Workowski KA: Trichomoniasis: Challenges to appropriate management. Clin Infect Dis 2007;44 Suppl 3:S123.

Johnston VJ, Mabey DC: Global epidemiology and control of *Trichomonas vaginalis*. Curr Opin Infect Dis 2008;21:56.

Nyirjesy P: Vulvovaginal candidiasis and bacterial vaginosis. Infect Dis Clin North Am 2008;22:637.

CASO 14: ÚLCERAS GENITALES

Un varón de 21 años acudió a la clínica y señaló como signo principal una úlcera en el pene. La lesión empezó como una pápula que se presentó tres semanas antes y evolucionó poco a poco hasta ulcerarse. No tenía dolor ni hubo pus ni secreción de la úlcera.

El paciente se había atendido en fechas anteriores por una enfermedad de transmisión sexual y se sospechaba que intercambiaba drogas por sexo.

Cuadro clínico

La temperatura del paciente era de 37°C, su pulso de 80 latidos/min, tenía 16 respiraciones por minuto y presión arterial de 110/80 mmHg. Se identificó una úlcera de un centímetro en el lado izquierdo del cuerpo del pene, con una base limpia y bordes elevados, con induración moderada. La palpación produjo poco dolor. Se palparon ganglios linfáticos en la ingle izquierda, de 1 a 1.5 cm de diámetro.

CUADRO 48-5 Vaginitis y vaginosis bacteriana

	Normal	Vaginosis bacteriana	Vaginitis por *T. vaginalis*	Vulvovaginitis por *C. albicans*
Síntomas y signos primarios	Ninguna	Secreción fétida y puede haber prurito	Secreción fétida y puede haber prurito	Secreción; prurito y ardor de la piel de la vulva
Secreción vaginal	Poca, blanca y con floculación	Mayor secreción, material acuoso, homogéneo, blanquecino, gris y adherente	Mayor secreción, de color amarillento, verdoso, espumosa y adherente. A menudo se detectan petequias en el cuello del útero	Mayor secreción, blanquecina, caseosa y similar al queso cottage
pH	<4.5	>4.5	>4.5	≤ 4.5
Olor	Ninguno	Frecuente, a pescado	A veces huele a pescado	Ninguno
Imagen microscópica	Células epiteliales con lactobacilos	Células propias de la vaginosis con bacilos adheridos; ausencia de PMN	Tricomonas móviles; muchos PMN	En la preparación con KOH se advierten levaduras en fase de eclosión y seudohifas
Tratamiento	Ninguno	Metronidazol por vía oral o tópica	Metronidazol por vía oral	Algún antimicótico azólico tópico

Datos de laboratorio

La lesión del pene se limpió con suavidad con solución salina y gasa y se obtuvo de la base de la lesión un volumen pequeño de exudado claro que se colocó en una laminilla y se estudió con microscopia de campo oscuro. Se observaron innumerables espiroquetas. La prueba serológica de detección, la reagina plasmática rápida (RPR, *rapid plasma reagin*) en busca de sífilis, mostró positividad en una dilución de 1:8. También hubo positividad en la prueba confirmatoria de absorción de anticuerpos fluorescentes contra treponema (FTA-ABS, *fluorescent treponemal antibody absorption test*).

Tratamiento y seguimiento

El paciente recibió una sola dosis de penicilina benzatínica. Seis meses después su prueba RPR era negativa, pero se esperaba que la prueba FTA-ABS seguiría positiva durante toda su vida.

El paciente mencionó a cinco mujeres con que había tenido relaciones sexuales en los treinta días anteriores de su visita a la clínica. De ellas tres fueron localizadas por investigadores en salud pública y dos mostraron resultados positivos en las pruebas serológicas para sífilis y fueron sometidas a tratamiento. Las dos restantes que no fueron localizadas habían migrado a otras ciudades y se desconocía su domicilio.

Comentarios

Las tres principales enfermedades que producen úlceras en genitales son: **sífilis**, **herpes genital** y **chancroide** (cuadro 48-6).

Dos de las enfermedades con esas características, aunque surgen con menor frecuencia, son la lesión inicial del **linfogranuloma venéreo** causada por *C. trachomatis* (cap. 27) y el **granuloma inguinal** (donovanosis), enfermedad poco frecuente causada por *Klebsiella granulomatis.* El linfogranuloma venéreo es un cuadro generalizado que incluye fiebre, malestar general y linfadenopatía; puede mostrar bubones en la ingle. El diagnóstico por lo común se confirma por medio de pruebas serológicas, pero en el cultivo del pus aspirado de uno de tales bubones se puede identificar *C. trachomatis*.

INFECCIONES POR *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

CASO 15: TUBERCULOSIS PULMONAR

Un varón de 64 años fue hospitalizado porque en los cinco meses anteriores mostró debilidad progresiva y pérdida ponderal de 13 kilogramos. Mostró también fiebre, escalofríos y tos crónica productiva, con expectoración de esputo amarillento a veces hemoptoico.

El paciente ingería abundantemente bebidas alcohólicas y vivía en una casa de pensión, junto a la taberna que frecuentaba. En los últimos 45 años fumó una cajetilla de cigarrillos diariamente.

El paciente no tenía antecedentes de tuberculosis, ningún registro de reacciones cutáneas para identificar tal enfermedad o anormalidades en las radiografías del tórax, y tampoco una exposición que corroborara la tuberculosis.

Cuadro clínico

La temperatura del enfermo fue de 39°C, su pulso de 110 latidos/min, tuvo 32 respiraciones por minuto y su presión arterial fue de 120/80 mmHg. Era una persona delgada. Su dentadura era deficiente, pero el resto de la exploración de cabeza y cuello fue normal. En la exploración del tórax se escucharon innumerables estertores crepitantes en los campos pulmonares inferiores, y el resto de su exploración física arrojó datos normales.

Datos de laboratorio y estudios de imagen

El hematócrito del paciente era de 30% (bajo) y el recuento leucocítico era de 9 600 células/μl. Las concentraciones de electrólitos y la biometría hemática fueron normales. La prueba en busca de anticuerpos contra VIH-1 fue negativa. En una radiografía del tórax se identificaron extensos infiltrados cavitarios en ambos lóbulos superiores. La reacción cutánea de tuberculina fue negativa y también las pruebas cutáneas con antígeno de parotiditis y cándida, lo cual denotó anergia.

Se obtuvo inmediatamente una muestra de esputo y se realizó una tinción en busca de bacterias acidorresistentes antes del procedimiento de concentración de esputo. En la extensión se identificaron innumerables bacterias acidorresistentes. En el cultivo del esputo descontaminado y concentrado, después de incubarlo 14 días, se identificaron bacterias acidorresistentes; dos días después, por medio de una sonda molecular se detectó *M. tuberculosis*. Las pruebas de susceptibilidad de dicho microorganismo indicaron que era susceptible a isoniazida, rifampicina, pirazinamida, etambutol y estreptomicina.

Evolución hospitalaria y tratamiento

El tratamiento del paciente incluyó isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol durante dos meses, seguidas de la administración de isoniazida y rifampicina durante siete meses bajo observación directa dos veces por semana. Los cultivos de esputo de seguimiento no indicaron la presencia de *M. tuberculosis*.

En la hospitalización se colocó al paciente en un cuarto de aislamiento y se le pidió que usara una mascarilla permanentemente. Sin embargo, antes de que se llevaran a cabo ambas medidas, un estudiante de medicina y un residente estuvieron expuestos al contagio de ese paciente. El residente mostró conversión de su reacción cutánea tuberculínica y durante nueve meses recibió profilaxis con isoniazida.

Se hizo un intento para identificar los contactos cercanos del enfermo y se detectó que 34 personas mostraron positividad en las pruebas de tuberculina. A los individuos de 35 años de edad o menores se administró isoniazida con fin profiláctico durante un año, y a los que tuvieron una edad mayor de la mencionada, en forma periódica se practicaron radiografías de tórax de seguimiento. También se diagnosticaron y trataron dos casos de tuberculosis activa. Los aislados de *M. tuberculosis* de los dos

CUADRO 48-6 Las principales enfermedades ulcerosas de genitales: sífilis, herpes y chancroide[a]

	Sífilis primaria	Herpes genital (lesiones iniciales)	Chancroide
Agente etiológico[b]	*Treponema pallidum*	Virus de herpes simple	*Haemophilus ducreyi*
Periodo de incubación	Tres semanas (10 a 90 días)	Dos a siete días	Tres a cinco días
Cuadro inicial usual	Pápula moderadamente dolorosa que se transforma en úlcera en el transcurso de una a varias semanas	Dolor intenso en el área genital; las pápulas se ulceran en término de 3 a 6 días; frecuentemente surgen fiebre, cefalea, malestar general y adenopatía inguinal	Pápula dolorosa al tacto que se ulcera en 24 h
Estudios diagnósticos	Estudio del exudado del chancro, con campo oscuro; pruebas serológicas	Cultivo del virus de células y líquido del chancro; las pruebas serológicas adquieren carácter positivo en 18 a 48 h; tinción con anticuerpos fluorescentes de la misma muestra	Cultivo de *Haemophilus ducreyi*, en dos tipos de medios enriquecidos (como mínimo), que contengan vancomicina y que se incuban a 33°C
Secuelas persistentes	Sífilis secundaria con lesiones mucocutáneas; sífilis terciaria	Herpes genital recurrente	Bubón inguinal
Tratamiento	Penicilina benzatínica G; si el sujeto es alérgico a ella, recurrir a la doxiciclina	Aciclovir, famciclovir o valaciclovir	Ceftriaxona, azitromicina, eritromicina o ciprofloxacina

[a]Publicación original: Sexually transmitted diseases treatment MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2006,6:1.

[b]Son importantes los estudios en busca de VIH en personas con cuadros que incluyen úlceras en genitales causadas por dichos patógenos.

pacientes fueron idénticos a la micobacteria del paciente índice, según los datos del método de huella molecular de DNA.

CASO 16: TUBERCULOSIS MILIAR DISEMINADA

Una mujer asiática de 31 años fue hospitalizada con el antecedente de que durante siete semanas había mostrado en forma cada vez más intensa malestar generalizado, mialgias, tos seca y disnea. Todos los días presentaba fiebre de 38 a 39°C, y en fecha reciente había perdido 5 kg de peso. Recibió una cefalosporina por vía oral, sin beneficio alguno.

Sus antecedentes médicos indicaron que había emigrado de las Filipinas a los 24 años y que para esa fecha una radiografía de tórax arrojó resultados negativos. La abuela de la paciente había fallecido de tuberculosis cuando era un bebé; no sabía si había estado en contacto con ella. De niña recibió una vacuna BCG. En la actualidad vivía con parientes que se encargaban del funcionamiento de un refugio para unos 30 ancianos.

Cuadro clínico

La temperatura de la paciente era de 39°C, su pulso, de 100 latidos/min, tenía 20 respiraciones por minto y su presión arterial era de 120/80 mmHg. Los resultados de su exploración física fueron totalmente normales y el explorador no pudo palpar el bazo; el hígado tenía tamaño normal a la percusión y no hubo linfadenopatías palpables.

Datos de laboratorio y estudios de imagen

La concentración de hemoglobina de la paciente fue de 8.3 g/100 ml (normal, 12 a 15.5 g/100 ml), y el hematócrito fue de 27% (normal, 36 a 46%). El frotis de sangre periférica indicó la presencia de eritrocitos hipocrómicos, microcíticos, compatibles con infección crónica o anemia ferropénica. El recuento plaquetario señaló 50 000/μl (normal, 140 000 a 450 000/μl). El recuento leucocítico fue de 7 000/μl (normal) y también lo fue el recuento diferencial. Hubo prolongación moderada de los tiempos de protrombina y de tromboplastina parcial, lo cual sugirió una coagulopatía propia de hepatopatías. Los resultados de las pruebas de función hepática fueron: aspartato aminotransferasa (AST), 140 unidades/L (normal, 10 a 40 unidades/L); alanina aminotransferasa (ALT), 105 unidades/L (normal, 5 a 35 unidades/L); bilirrubina 2 mg/100 ml (el doble de lo normal), y fosfatasa alcalina, 100 unidades/L (normal 36 a 122 unidades/L). La albúmina sérica fue de 1.7 g/100 ml (normal, 3.4 a 5 g/100 ml). Fueron normales las cifras de creatinina, nitrógeno de la urea sanguínea y electrólitos. En los análisis de orina se detectaron pocos eritrocitos y leucocitos. Dos cultivos de sangre hechos de manera sistemática fueron negativos. En los cultivos de esputo y orina proliferó flora normal escasa.

Las pruebas serológicas para detectar VIH-1, anticuerpo y antígeno del virus de hepatitis B, coccidioidomicosis, leptospirosis, brucelosis, infección por micoplasmas, enfermedad de Lyme y fiebre Q fueron negativas. La reacción cutánea de tuberculina fue negativa y también lo fueron las pruebas cutáneas con antígenos de parotiditis y cándida, todo lo cual denotó anergia.

La radiografía de tórax arrojó resultados normales. Las radiografías del tubo digestivo alto y las realizadas con enema de bario fueron negativas. También hubo resultados negativos en la CT del abdomen.

Evolución hospitalaria y tratamiento

En los primeros días de su hospitalización la paciente mostró disnea progresiva e insuficiencia respiratoria. En las radiografías repetidas de tórax se observaron en ambos lados infiltrados intersticiales. Se hizo el diagnóstico del síndrome de disfunción respiratoria del adulto. En ese momento su nivel de hemoglobina era de 10.6 g/100 ml, y el número de leucocitos, 4 900 células/µl. En los gases de sangre arterial se detectaron pH de 7.38, Po_2 de 50 mmHg (cifra baja), y Pco_2 de 32 mmHg. Se inició la oxigenoterapia y se intubó durante cuatro días a la paciente. Se realizó lavado broncoalveolar (BAL) y el líquido no tuvo microorganismos, después del cultivo sistemático, y la tinción para bacterias acidorresistentes también fue negativa. En la segunda CT del abdomen se observó que el hígado tenía aspecto normal pero hubo linfadenopatía periaórtica y esplenomegalia leve. Se emprendió la laparoscopia y se realizó biopsia de hígado y médula ósea.

En las biopsias del hígado y la médula ósea se identificaron granulomas con células gigantes y la presencia de bacilos acidoresistentes. (Las reservas de hierro fueron abundantes, lo cual denotó que la anemia provenía de una infección crónica y no de deficiencia de hierro.) Se comenzó la administración de isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol. En las radiografías de tórax persistió la imagen de infiltrados difusos, pero la mejoría en ellas fue evidente. La fiebre disminuyó y el estado clínico de la paciente también mejoró.

Entre los días 19 y 21 de incubación las biopsias de hígado y médula ósea y el líquido del BAL mostraron resultados positivos para bacilos acidorresistentes, los que, según la sonda molecular, correspondieron a *M. tuberculosis*. Las micobacterias fueron susceptibles a todos los fármacos que se administraban a la paciente. El régimen con cuatro medicamentos se continuó durante dos meses hasta que se practicaron pruebas de susceptibilidad. Para esa fecha se continuó la administración de isoniazida y rifampicina por 10 meses más, hasta un total de 12 meses de tratamiento.

Se practicaron pruebas cutáneas en busca de tuberculosis a los parientes y a los ancianos que vivían con la paciente. En los sujetos con resultados positivos de las reacciones cutáneas y los que mostraban anergia o que tenían antecedente reciente de tos o adelgazamiento, se practicaron radiografías de tórax. Se identificó a tres personas con tuberculina positiva, pero ninguna tenía tuberculosis activa. Las tres personas tenían más de 35 años de edad y no se les administró isoniazida con fin profiláctico, debido a los efectos adversos de dicho fármaco en personas de mayor edad.

Según opiniones de expertos, la paciente de este caso mostró tuberculosis de reactivación con una diseminación hemática que abarcó pulmones, hígado, ganglios linfáticos y posiblemente riñones.

Comentarios

Se ha calculado que a nivel mundial más de 1 500 millones de personas (que equivaldría a un tercio de la población del planeta), tienen tuberculosis, y que cada año fallecen por dicha enfermedad tres millones de enfermos. En Estados Unidos, a mediados de la década de 1980 se observó la más baja incidencia de tuberculosis, que fue de 9.4 por 100 000 personas. A finales de esa década la cifra aumentó poco, pero desde 1992 ha disminuido nuevamente. La cifra más baja (de registro reciente) de 5.2 casos por 100 000 personas (14 874 casos) fue notificada en 2003. La tuberculosis en Estados Unidos afecta con mayor frecuencia a poblaciones de clases socioeconómicas bajas: personas de bajos recursos en ciudades, indigentes, migrantes agrícolas, alcohólicos y usuarios de drogas intravenosas. En promedio, la mitad de los casos de la enfermedad se observa en personas de origen extranjero. La incidencia de este trastorno puede ser muy alta en grupos y áreas geográficas precisos (por ejemplo en enfermos VIH-positivos que abusan de drogas intravenosas en los estados del este de Estados Unidos, y en pacientes haitianos con sida). La tuberculosis en ancianos por lo común proviene de reactivación de una infección previa, en tanto que la que afecta a niños denota transmisión activa del microorganismo. En promedio, 80% de los casos en niños se detectan en minorías étnicas. Sin embargo, la tuberculosis activa se identifica más a menudo en adultos jóvenes, frecuentemente junto con infecciones por VIH-1 y tal coincidencia de las dos infecciones es especialmente importante en países en desarrollo. En África se sabe que millones de personas tienen las dos enfermedades. Existe preocupación grande por la propagación de tuberculosis multirresistente en Rusia.

El contagio de la tuberculosis de un paciente a otra persona se hace por las gotículas infectantes generadas durante la tos, el estornudo o al hablar. Factores importantes en dicha transmisión son la cercanía y la duración del contacto y qué tan infeccioso sea el paciente. En términos generales, $<50\%$ de los contactos de casos activos se infecta, tal como se mide por el índice de conversión en pruebas cutáneas de la tuberculina. Por lo regular no son infecciosos dos semanas después de comenzar el tratamiento; una vez infectadas, 3 a 4% de las personas terminan por mostrar tuberculosis activa en los primeros 12 meses, y en promedio, 10% en fecha ulterior. Las edades en las cuales es más frecuente que se genere enfermedad activa son la lactancia, personas de 15 a 25 años y los ancianos.

La **reacción cutánea de la tuberculina** se practica por la inyección intracutánea de cinco unidades de tuberculina (TU, *tuberculin units*) de derivado proteínico purificado (PPD, *purified protein derivative*), por medio de una aguja de calibre 26 o 27. La reacción se lee entre las 48 y las 72 h y es positiva cuando hay induración de 10 mm o más; no se considera que el eritema determine que la prueba sea positiva. De las personas con induración de 10 mm, 90% presenta infección por *M. tuberculosis,* en tanto que esencialmente todas las que tienen una induración mayor de 15 mm están infectadas. Los resultados falsos positivos dependen de la infección por micobacterias no tuberculosas (como *Mycobacterium kansasii*); los resultados falsos negativos dependen de la enfermedad generalizada en tuberculosos, o de inmunodepresión. Pueden ser útiles para identificar anergia, pruebas cutáneas adicionales con antígenos de cándida o parotiditis, a los cuales reaccionan casi todas las personas inmunológicamente normales.

La **infección primaria** por *M. tuberculosis* en niños incluye infiltrados en los campos pulmonares medios o inferiores, y en las radiografías de tórax, linfadenopatía hiliar. Los adolescentes y los adultos pueden tener un cuadro similar de infección primaria, pero ella evolucionará a muy breve plazo hasta llegar a **enfermedad cavitaria apical**. En los ancianos el cuadro inicial de tuberculosis puede ser inespecífico y asumir la forma de neumonía del lóbulo inferior. El surgimiento de enfermedad cavitaria apical sugiere decididamente la presencia de tubercu-

losis (el diagnóstico diferencial incluye histoplasmosis), pero la tuberculosis puede simular el cuadro de otras enfermedades cuando están infectadas zonas de los pulmones distintas a los vértices. La tuberculosis pulmonar crónica puede ser causada por reactivación de infección endógena o por reinfección exógena.

La **tuberculosis extrapulmonar** afecta a menos de 20% de los pacientes; es más frecuente en enfermos de sida y el cuadro es muy grave e incluso mortal. El mecanismo más frecuente de propagación es la diseminación hemática en el momento de la infección primaria o con menor frecuencia, de focos pulmonares crónicos o de otros sitios. A veces se observa extensión directa de la infección y su paso a los espacios pleural, pericárdico o peritoneal, porque puede haber diseminación al aparato gastrointestinal si el sujeto deglute secreciones infectadas. En enfermos de sida, a diferencia de otros pacientes, es frecuente que coexistan enfermedades pulmonar y extrapulmonar. Las principales formas extrapulmonares de tuberculosis (en orden descendente de frecuencia, aproximadamente) son: linfática, pleural, genitourinaria, ósea y articular, diseminada (miliar), meníngea, y peritoneal. Sin embargo *M. tuberculosis* puede infectar a cualquier órgano y hay que incluir a la tuberculosis en el diagnóstico diferencial de otras muchas enfermedades.

Los dos fármacos principales que se utilizan para combatir la tuberculosis (antifímicos) son: **isoniazida** y **rifampicina**. Los otros productos de primera línea son **pirazinamida** y **etambutol**. Se cuenta con otros medicamentos de segunda línea, que son más tóxicos o menos eficaces o con ambas características, y se incluyen en el tratamiento solamente si las circunstancias lo justifican (por ejemplo, ineficacia de los fármacos estándar por farmacorresistencia múltiple). Se cuenta con regímenes aprobados para tratar las formas susceptibles de *M. tuberculosis* en niños y adultos. Casi todos los médicos prefieren esquemas durante seis meses. La fase inicial de un régimen semestral en los adultos debe incluir un periodo de dos meses a base de isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol (INH, RIF, PZA y EMB). Un procedimiento óptimo es la terapia con observación directa y vigilancia durante cinco días a la semana. La fase de continuación del tratamiento incluirá INH y RIF durante un mínimo de cuatro meses; tal fase debe ampliarse a tres meses más en individuos que en la primera radiografía de tórax o en la de vigilancia presentaron cavidades y cultivos positivos en la fecha de terminación de la fase inicial del tratamiento (dos meses).

Se recomienda que el tratamiento dure nueve meses si es imposible incluir PZA en el régimen inicial o si se detecta que el microorganismo aislado es resistente a ese fármaco. En los primeros dos meses el tratamiento incluirá INH, RIF y EMB y después INH y RIF durante siete meses, todos los días o dos veces por semana. Factores importantes en la selección de fármacos apropiados y para definir la duración del tratamiento son la susceptibilidad de los microorganismos o su resistencia a la INH y la RIF. En individuos que no colaboran es importante el tratamiento supervisado.

REFERENCIAS

American Thoracic Society, CDC and Infectious Diseases Society of America: Treatment of tuberculosis. MMWR, Morb Mortal Wkly Rep 2003;52(RR11):1.

LoBue P: Extensively drug-resistant tuberculosis. Curr Opin Infect Dis 2009;22:167.

Maartens G, Wilkinson RJ: Tuberculosis. Lancet 2007;370:2030.

INFECCIÓN POR VIH-1 Y SIDA

CASO 17: INFECCIÓN DISEMINADA POR EL COMPLEJO DE *MYCOBACTERIUM AVIUM* (MAC)

Un varón de 44 años acudió a la clínica con el antecedente de haber presentado fiebre intermitente durante varias semanas, acompañada en ocasiones de escalofríos. Con frecuencia cada vez mayor presentó defecaciones sin diarrea franca, pero a veces con cólicos y dolor abdominal. No tenía cefalea y tos. Había perdido unos 5 kg de peso; el resto del interrogatorio y antecedentes era negativo.

Diez años antes de la enfermedad actual, las actividades que realizaba lo colocaron en peligro de que se contagiara de VIH. Nunca se sometió a pruebas de laboratorio.

Cuadro clínico

La temperatura del paciente era de 38°C, su pulso, de 90 latidos/min, 18 respiraciones/min y su presión arterial era de 110/70 mmHg. Su aspecto no era de gravedad inmediata. Se palpaba en el cuadrante izquierdo superior del abdomen el extremo del bazo a 3 cm por debajo de las costillas (que sugería esplenomegalia). No se detectaron hepatomegalia, linfadenopatía, signos neurológicos ni meníngeos. La impresión de la exploración física general fue de normalidad.

Datos de laboratorio y estudios de imagen

El recuento leucocítico era estable, con una cifra de 3 000 células/μl (menor de lo normal). El hematócrito era de 29% (valor menor de lo normal). El recuento de linfocitos T cooperadores-inductores CD4 fue de 75 células/μl, (cifra normal, 425 a 1 650 μl).

La química sanguínea solamente fue notable por la concentración de fosfatasa alcalina del hígado de 210 unidades/L (cifra normal, 36 a 122 unidades/L). Al investigar más la causa de la fiebre se observó que sus análisis de orina eran normales, en hemocultivos sistemáticos no hubo proliferación de microorganismos y la radiografía del tórax fue normal. La prueba del antígeno criptococócico en suero fue negativa. Se practicaron dos hemocultivos en busca de micobacterias que se tornaron positivos 10 y 12 días después de la obtención de la sangre. Tres días después, se identificó por medio de sonda molecular, una micobacteria del complejo *M. avium* (MAC).

La prueba de ELISA estándar para identificar anticuerpos contra VIH-1 fue positiva. En las pruebas de inmunotransferencia (Western blot) se detectaron anticuerpos contra cada uno de los principales grupos de antígenos de VIH-1, las proteínas Gag, Pol y Env. La prueba de DNA de cadena ramificada para medir RNA de VIH-1 fue positiva, con 300 000 copias/ml.

CUADRO 48-7 **Resumen de infecciones que definen al sida, su tratamiento y profilaxis**

Infección que define al sida	Tipo de infección	Tratamiento	Profilaxis o tratamiento de sostén
Virus			
Citomegalovirus	Retinitis, colitis, esofagitis, neumonía y viremia	Valganciclovir ingerido e implante intraocular de ganciclovir (retinitis); ganciclovir, foscarnet y famciclovir intravenoso (oral y genital)	Ganciclovir oral o intravenoso
Virus de Epstein-Barr	Linfomas no-Hodgkin de células B de alto grado	Citotóxicos en dosis altas después de HAART	
Herpes simple	Úlceras cutáneas, orofaríngeas o bronquiales; proctitis	Aciclovir, foscarnet	Aciclovir, famciclovir, valaciclovir
Virus JC	Leucoencefalopatía multifocal progresiva		
Virus del herpes humano 8 (virus del herpes que surge en el sarcoma de Kaposi)	Sarcoma de Kaposi		
Bacterias			
Complejo de *Mycobacterium avium*	Diseminada o extrapulmonar	En términos generales se utilizan 2 a 4 medicamentos: claritromicina o azitromicina, etambutol o rifabutina, o ciprofloxacina, o rifampicina	Claritromicina o azitromicina
Mycobacterium kansasii, y otras bacterias no tuberculosas	Diseminada o extrapulmonar	Con base en los perfiles de susceptibilidad establecidos	
Mycobacterium tuberculosis	Cualquier sitio: pulmonar, linfadenitis o diseminada	Isoniazida, rifampicina, pirazinamida y etambutol (y otros fármacos con base en los resultados de prueba de susceptibilidad), durante dos meses; continuar con isoniazida y rifampicina durante cuatro meses más, como mínimo	Evitar la transmisión por medio de prácticas satisfactorias de erradicación de infecciones; isoniazida en caso de que la prueba cutánea de la tuberculina sea positiva con un diámetro ≥5 mm
Infecciones bacterianas piógenas recurrentes	Dos episodios o más en término de dos años y si la persona tiene menos de 13 años de vida; ≥2 episodios de neumonía en un año en personas de cualquier edad: *Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Streptococcus agalactiae,* y otros estreptococos, *Haemophilus influenzae y Staphylococcus aureus*	Con arreglo a cada especie	
Especies de *Salmonella*	Bacteriemia	Cefalosporinas de la tercera generación, ciprofloxacina	Ciprofloxacina
Pneumocystis jiroveci	Neumonía	Trimetoprim-sulfametoxazol; isetionato de pentamidina, trimetrexato más leucovorina con dapsona o sin ella; clindamicina más primaquina	Trimetoprim-sulfametoxazol; dapsona con pirimetamina o sin ella y además leucovorina; isetionato de pentamidina en aerosol y atovacuona
Hongos			
Candida albicans	Esofagitis, traqueobronquitis; también afectación orofaríngea y vaginitis	Anfotericina B, fluconazol y otros fármacos	Fluconazol
Cryptococcus neoformans	Meningitis diseminada; también ataque pulmonar	Anfotericina B y flucitosina, fluconazol y flucitosina	Fluconazol
Histoplasma capsulatum	Formas extrapulmonares y pulmonares también	Anfotericina B, itraconazol	Itraconazol
Coccidioides immitis	Ataque extrapulmonar y también pulmonar	Anfotericina B	Itraconazol o fluconazol orales
Protozoos			
Toxoplasma gondii	Encefalitis diseminada	Pirimetamina y sulfadiazina y leucovorina; pirimetamina y clindamicina, más ácido fólico	Trimetoprim-sulfametoxazol o pirimetamina-dapsona; atovacuona con pirimetamina o sin ella más leucovorina
Cryptosporidium	Diarrea durante un mes o menos	ART eficaz puede originar respuesta clínica; nitazoxanida, paromomicina	
Especies de *Isospora*	Diarrea durante un mes o menos	Trimetoprim-sulfametoxazol	Trimetoprim-sulfametoxazol

CUADRO 48-8 Complicaciones frecuentes en personas con infección por VIH

Sitio	Complicación y origen	Comentarios
General	Limfadenopatía generalizada progresiva	Aparece en 50 a 70% de personas después de la infección primaria por VIH; es importante diferenciar el cuadro de otras muchas enfermedades que ocasionan linfadenopatía
Sistema nervioso	Encefalopatía por VIH; demencia del sida	Amnesia de hechos recientes; dificultad para organizar actividades diarias; falta de atención
	Toxoplasmosis cerebral; *Toxoplasma gondii*	Es común la afectación multifocal del cerebro y origina formas muy diversas de enfermedad clínica: alteración del estado mental, convulsiones, debilidad motora, anormalidades sensitivas, distensión de cerebelo, etc.
	Meningitis por criptococos; *Cryptococcus neoformans*	El comienzo suele ser insidioso e incluye fiebre, cefalea y malestar general
	Leucoencefalopatía multifocal progresiva; virus JC	Los déficit neurológicos focales se manifiestan en un periodo de semanas
	Citomegalovirus	Encefalitis, polirradiculopatía, mononeuritis múltiple
	Linfoma primario del sistema nervioso central	Los déficit neurológicos focales se manifiestan en un lapso de días a semanas
Ojos	Citomegalovirus	Retinitis
Piel	Sarcoma de Kaposi: virus herpético humano 8 (virus herpético vinculado con el sarcoma de Kaposi)	Nódulos cutáneos firmes y palpables de 0.5 a 2 cm de diámetro; en el comienzo pueden ser de menor tamaño y más tarde confluir y formar grandes masas tumorales; su color típicamente es violáceo; en personas de piel oscura pueden mostrar hiperpigmentación; puede abarcar muchos órganos y sistemas
	Foliculitis por estafilococos: *Staphylococcus aureus*	Infección de los folículos pilosos, de la zona central del tronco, la ingle o la cara
	Herpes zoster: virus de varicela-zoster	Vesículas sobre una base eritematosa, distribuidas por dermatomas
	Úlceras herpéticas: virus del herpes simple	Vesículas agrupadas sobre una base eritematosa que evolucionan rápidamente y se transforman en úlceras; por lo común en la cara, las manos y los genitales
	Angiomatosis bacilar: *Bartonella henselae, Bartonella quintana*	Pápula roja cada vez más grande, y en su alrededor eritema; imagen clínica similar a la del sarcoma de Kaposi aunque su estructura histológica es muy diferente
	Molusco contagioso	Pápulas o nódulos de color carne, perlados, como una semiesfera, circunscritos y a menudo umbilicados. Por lo común aparecen en la línea de la barba. En sujetos con VIH puede ocurrir infección intensa y duradera
Boca	Candidosis de la boca: *Candida albicans*	Zonas lisas rojizas de los paladares blando o duro; puede formar seudomembranas
	Tricoleucoplasia: probablemente por virus de Epstein-Barr	Engrosamiento de la mucosa de la boca, a menudo con pliegues o arrugas verticales
	Gingivitis o periodontitis	Encías muy rojas; úlceras necrosantes alrededor de los dientes
	Úlceras de la boca: por virus de herpes simple, varicela-zoster, citomegalovirus y otros agentes infecciosos	El cuadro inicial puede incluir vesículas recidivantes que forman úlceras
	Sarcoma de Kaposi	Lesiones de color rojo, violeta muy a menudo en el paladar
Aparato gastrointestinal	Esofagitis: *Candida albicans*, citomegalovirus y del herpes simple	El cuadro inicial incluye dificultad y dolor en la deglución
	Gastritis: citomegalovirus	Náusea, vómito, saciedad prematura, anorexia
	Enterocolitis: por *Salmonella, Cryptosporidium, Isospora,* microsporidios, *Giardia, Entamoeba histolytica* y otros agentes más	Cuadro muy frecuente; diarrea, cólicos, dolor abdominal
	Proctocolitis por *Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum*, *Campylobacter*, herpes simple, citomegalovirus	Dolor en el recto
Pulmones	Neumonía intersticial o con consolidación: muchos tumores y especies de bacterias, hongos, virus y protozoos pueden causar una neumopatía en pacientes infectados con VIH	El comienzo puede ser lento o rápido, con fiebre, tos y disnea; el diagnóstico suele corroborarse con broncoscopia con lavado broncoalveolar

(continúa)

CUADRO 48-8 Complicaciones frecuentes en personas con infección por VIH (*Continuación*)

Sitio	Complicación y origen	Comentarios
Aparato genital	Candidosis vaginal: *Candida albicans*	Secreción anormal similar a requesón con enrojecimiento y prurito en vulva. Frecuente en mujeres infectadas por VIH
	Verrugas genitales: virus de papiloma humano	Puede ser grave en sujetos infectados por VIH
	Carcinoma cervicouterino invasor: virus de papiloma humano	En mujeres infectadas por VIH es frecuente identificar células atípicas en el frotis de Papanicolaou, hasta la forma de carcinoma, incluida tal neoplasia
	Enfermedad inflamatoria pélvica	Más frecuente e intensa en mujeres infectadas por VIH que en otras
	Herpes genital: virus de herpes simple	Suele ser recurrente y más intensa en personas infectadas por VIH que en otros sujetos
	Sífilis: *Treponema pallidum*	La sífilis es una enfermedad mucho más progresiva en personas infectadas por VIH que en otras; su presencia puede acelerar la evolución de la sífilis del sistema nervioso

Tratamiento y vigilancia

Se inició un régimen con tres fármacos contra MAC: claritromicina, etambutol y ciprofloxacina. El enfermo percibió una sensación de bienestar cada vez mayor, tuvo una disminución notable de la fiebre y los sudores profusos, y su apetito mejoró. En forma concomitante se comenzó con la administración de **antirretrovirales altamente eficaces** (HAART, *highly active antiretroviral therapy*). Los fármacos eran dos inhibidores nucleósidos de la transcriptasa inversa, abacavir y lamivudina (3TC). Cuatro meses después de comenzar la terapia con antirretroviral, la prueba de carga viral con RNA del VIH-1 señaló que casi no se detectaban las partículas; el número de linfocitos T CD4 fue de 250 células/μl.

Comentarios sobre la infección por VIH-1 y SIDA

En forma típica el periodo de incubación desde la exposición hasta el comienzo de la enfermedad aguda por VIH-1 es de dos a cuatro semanas. Casi todos los individuos presentan un cuadro agudo que dura de 2 a 6 semanas y sus signos y síntomas más frecuentes son fiebre (97%), adenopatía (77%), faringitis (73%), exantemas (70%) y mialgias o artralgias. La erupción es eritematosa y no pruriginosa e incluye lesiones maculopapulosas (poco elevadas), de 5 a 10 mm de diámetro, por lo común en la cara y en el tronco, que pueden aparecer en las extremidades, las palmas y las plantas, o generalizarse. Las úlceras en la boca son un signo característico de la infección primaria por VIH. Se ha descrito al cuadro agudo como “similar a la mononucleosis”, pero constituye un síndrome por sí mismo.

En término de dos semanas después de la infección primaria surgen anticuerpos IgM contra VIH-1 y anteceden a la aparición de anticuerpos IgG, que se detectan en término de otras semanas más. Uno de los puntos por lo que mayor preocupación sienten los bancos de sangre es detectar el RNA del VIH-1 en fase temprana de la infección, para impedir que se transfunda sangre sin anticuerpos pero con VIH-1.

El sida constituye la principal complicación de la infección por VIH-1. Se ha definido al síndrome por la aparición de infecciones graves por oportunistas, neoplasias u otras manifestaciones mortales que son consecuencia de la inmunodepresión progresiva inducida por VIH-1. El sida constituye la manifestación más grave de enfermedades clínicas después de la infección primaria por VIH. La primera definición formal de dicho síndrome se planteó antes de que se identificara el VIH-1. La definición mencionada fue modificada en 1987 para incluir pruebas de la infección por VIH-1 y en 1993, en que se agregó el criterio del número de linfocitos CD4. Los tres criterios del número de dicha célula son: 1) más de 500 células/μl; 2) 200 a 499 células/μl, y 3) menos de 200 células/μl. Las tres categorías clínicas son: A) infección aguda por VIH-1 que incluye linfadenopatía persistente y enfermedad asintomática; B) sujetos con cuadros sintomáticos que se atribuyen a la infección por VIH-1 o que son complicadas por ella (candidosis bucofaríngea o vulvovaginal persistente, herpes zoster recurrente, angiomatosis bacilar y otras enfermedades) y C) enfermedades que definen al sida (véase adelante). El resultado neto de la clasificación actual de la infección por VIH-1 en su subdivisión en subtipos clasificados por letras y subsubtipos denotados por números. En la actualidad se han reconocido los subtipos y subsubtipos siguientes: A1, A2, A3, A4, B, C, D, F1, F2, G, H, J y K. El sistema de clasificación es útil para estudiar los aspectos epidemiológicos, la transmisibilidad y tal vez la respuesta a antirretrovirales. Sin embargo, el objetivo planteado para mejorar el tratamiento clínico y terapéutico de enfermos con sida se basa aún en gran parte en el número de linfocitos CD4 y la carga viral. En países desarrollados se practica el recuento de linfocitos CD4, pero no en muchas zonas del mundo, razón por la cual la utilidad de la clasificación compleja comentada no es grande en muchas áreas geográficas. La clasificación tampoco toma en consideración el cambio del estado de los enfermos, que puede mejorar impresionantemente con la administración de antirretrovirales altamente eficaces.

En el cuadro 48-7 se incluyen las infecciones que definen al sida (clasificación C en párrafos anteriores). Los tumores que definen el sida comprenden el linfoma primario del cerebro, el linfoma de Burkitt o inmunoblástico y el carcinoma cervicouterino invasor en mujeres, además del sarcoma de Kaposi. También son cuadros que definen al sida la encefalopatía por VIH-1 con deterioro de las funciones cognitiva y motora y la enfermedad consuntiva por el mismo virus (pérdida ponderal

mayor de 10% y en el curso de un mes, diarrea o debilidad y fiebre).

El cuadro inicial de sujetos infectados por VIH-1 incluye signos y síntomas provenientes de uno o más órganos y sistemas. Las infecciones frecuentes por oportunistas se incluyen según su sitio anatómico en el cuadro 48-8. En forma típica, la valoración de pacientes que pueden tener infección por VIH-1 o sida se basa en los antecedentes clínicos y epidemiológicos de posible exposición, junto con la valoración diagnóstica de la enfermedad inicial, según el sitio afectado.

Los conocimientos en relación con la farmacoterapia contra VIH-1 cambian con gran rapidez, y por esa razón, las recomendaciones sobre ella deben ser consideradas como provisionales. Se expondrán únicamente directrices generales. La profilaxis después de la exposición, a base de fármacos contra VIH-1, es eficaz y el tratamiento de la infección primaria por el virus pudiera tener consecuencias pronósticas favorables. Muchos factores influyen en la decisión de comenzar la terapia contra dicho virus, que comprenden la rapidez de disminución del número de linfocitos CD4 y la concentración sanguínea de RNA de VIH-1. En los comienzos de la enfermedad, cuando el número de linfocitos CD4 es >500 células/μl, un elemento adecuado es vigilar el estado clínico. Si el número de tales células se sitúa entre 200 y 500 linfocitos/μl, está indicado el tratamiento antirretroviral, según los resultados de las pruebas de RNA viral. Si el número de linfocitos disminuye a <200 células/μl, por lo regular se recomienda administrar fármacos que sean activos contra VIH-1. Los medicamentos usados para combatir la infección por el virus se exponen en el capítulo 30. Si el número de linfocitos CD4 es <200 células/μl se recomienda administrar dos análogos nucleósidos de la transcriptasa inversa y un inhibidor de proteasa o un inhibidor no nucleósido de la transcriptasa inversa. Este tratamiento antirretroviral altamente eficaz ha mejorado significativamente la vida y el pronóstico de muchos enfermos de sida. La respuesta al tratamiento debe revisarse en forma seriada por seguimiento de la carga viral y también por pruebas de resistencia cuando la respuesta clínica es insatisfactoria. Si el número de linfocitos CD4 es <200 células/μl, conviene emprender la profilaxis contra la infección por *P. jiroveci*. También pueden convenir las medidas preventivas contra otras infecciones oportunistas (cuadro 48-7).

REFERENCIAS

Hammer SM et al: International AIDS Society-USA. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2008 recommendations of the International AIDS Society—USA panel. JAMA 2008;300:555.

Murphy RL (chair): Critical issues surrounding treatment in the era of active antiretroviral therapeutics. Clin Infect Dis 2000;30 (2 Suppl). [Entire issue.]

Peiperl L, Coffey S, Bacon O, Volberding P (editors): HIV In Site Knowledge base [electronic resource], the comprehensive, on-line textbook of HIV disease from the University of California San Francisco and San Francisco General Hospital 2009; http://hivinsite.ucsf. edu/InSite.jsp?page=KB.

Taylor BS, Sobieszczyk ME, McCutchan FE, Hammer SM: The challenge of HIV-subtype diversity. N Engl J Med 2008;358:1590.

INFECCIONES EN RECEPTORES DE TRASPLANTE

CASO 18: TRASPLANTE DE HÍGADO

Un varón de 61 años se sometió a trasplante ortotópico de hígado por cirrosis producida por hepatitis crónica C. Se contagió de hepatitis por una transfusión de sangre durante una operación de derivación coronaria 10 años antes de que mostrara la hepatopatía; esta última fue diagnosticada dos años antes del trasplante ortotópico de hígado, cuando presentó hemorragia por várices esofágicas. Se logró la hemostasia, pero el paciente más tarde presentó ascitis y encefalopatía de origen hepático que se pudo controlar poco con medidas farmacológicas. También tenía diabetes insulinodependiente. En el momento de su valoración inicial cuatro meses antes del trasplante, los resultados de sus pruebas de función hepática incluyeron: AST, 43 unidades/L (cifra normal, 10 a 40 unidades/L); ALT, 42 unidades/L (cifra normal, 36 a 122 unidades/L); bilirrubina, 2.9 mg/100 ml (cifra normal, 0.1 a 1.2 mg/100 ml), albúmina, 2.6 g/100 ml (cifra normal, 3.4 a 5 g/100 ml), y prolongación del tiempo de protrombina, de 1.8 de la Razón Internacional Normalizada (INR, *International Normalized Ratio*). El anticuerpo anti-HCV fue identificado por medio del enzimoinmunoensayo y el genotipo del virus era de tipo 1. El paciente no mejoró con la combinación de interferón-α y ribavirina después de 12 meses. Las mediciones de la carga viral llegaron a 500 000 UI/ml.

En el ejemplo que se señaló, el trasplante ortotópico de hígado se logró sin problemas. La reconstrucción de vías biliares se hizo por coledococoledocostomía (anastomosis primaria del colédoco del donador al del receptor), y colocación de una sonda en T para drenaje externo de la bilis durante la cicatrización de la anastomosis. Al explorar el hígado extirpado se identificó por casualidad un carcinoma hepatocelular. Se comenzó la administración endovenosa de tacrolimús (para disminuir el rechazo) en goteo continuo durante 24 h, y corticoesteroides para inmunodepresión (y también para evitar el rechazo). La presentación intravenosa del tacrolimús se cambió a la vía oral el segundo día. Se comenzó a administrar por vía intravenosa ganciclovir en el primero al séptimo días, para evitar la infección por citomegalovirus (hepatitis y neumonía); una vez que se interrumpió el uso del ganciclovir, se emprendió la administración del mismo fármaco en altas dosis por vía oral, cuatro veces al día durante tres meses, como una estrategia continua de profilaxis contra la infección por el virus mencionado. También, como medida profiláctica contra la neumonía por *Pneumocystis* se emprendió la administración de trimetoprim-sulfametoxazol por vía oral, dos veces por semana.

La función del aloinjerto se reanudó inmediatamente después del trasplante. En el séptimo día, su AST era de 40 uni-

dades/L, la fosfatasa alcalina, de 138 unidades/L (cifra normal, 36 a 122 unidades/L), y la bilirrubina, de 6.2 mg/100 ml. El diagnóstico diferencial de las anormalidades de la función hepática incluyó la lesión durante la fase de conservación de la glándula, entre la donación y el trasplante, trombosis de la arteria hepática y en raras ocasiones hepatitis por herpes simple. La biopsia del hígado en el séptimo día señaló daño durante la fase de conservación.

El día 12 el enfermo fue dado de alta y en ese momento recibía tacrolimús y prednisona por vía oral, para evitar el rechazo. En el día 21, la biopsia de hígado no señaló signos de rechazo celular y las pruebas de función hepática fueron excelentes: AST, 18 unidades/L, fosfatasa alcalina, 96 unidades/L, y bilirrubina, 2 mg/100 ml. La concentración de creatinina sérica fue 2.2 mg/100 ml (cifra normal, 0.5 a 1.4 mg/100 ml) y se disminuyó la dosis de tacrolimús oral. El día 28 los resultados de las pruebas de función hepática se elevaron: AST, 296 unidades/L, fosfatasa alcalina, 497 unidades/L y bilirrubina, 7 mg/100 ml. El diagnóstico diferencial de la función anormal del hígado fue rechazo celular agudo y obstrucción de vías biliares. Existía la posibilidad de hepatitis por citomegalovirus, pero tal situación por lo común aparece después del día 35 y se había dado profilaxis contra dicho virus. La biopsia de hígado indicó rechazo celular agudo.

El tratamiento en ese momento incluyó dos dosis intravenosas de metilprednisolona y después prednisona por vía oral. La concentración sanguínea de tacrolimús estaba dentro de límites terapéuticos. La biopsia de hígado de seguimiento, dos semanas más tarde indicó mínimos cambios grasos, pero no rechazo. La AST era de 15 unidades/L, fosfatasa alcalina, 245 unidades/L y bilirrubina, 1.6 mg/100 ml.

Un mes después, 2.5 meses después del trasplante, la AST aumentó de nuevo a 155 unidades/L, pero no cambió la fosfatasa alcalina y se mantuvo en 178 unidades/L. En la biopsia se observó moderado cambio graso, necrosis lobular de hepatocitos e inflamación porta leve compatible con una infección por hepatitis C después del trasplante o rechazo en fase de resolución. No se practicó la reacción en cadena de la polimerasa para el RNA del HCV porque habría sido positiva y poseía escaso valor pronóstico. La impresión clínica fue de hepatitis C recurrente. Se continuó la administración de tacrolimús y prednisona. En el curso del mes siguiente se normalizaron las pruebas de función hepática.

Seis meses después del trasplante se extrajo la sonda en T del sistema de drenaje de bilis. Inmediatamente el enfermo sintió dolor intenso y difuso en el abdomen. En el cultivo de la bilis proliferaron *E. coli* y *enterococcus faecium*. La impresión clínica fue que se había producido derrame de bilis en el interior del abdomen. El paciente recibió ceftriaxona y vancomicina. Se practicó colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (ERCP, *endoscopic retrograde cholangiopancreatography*) con esfinterotomía para mejorar el flujo de bilis y el paciente se dio de alta dos días después.

Ocho meses después del trasplante el paciente presentó edema subcutáneo generalizado (anasarca) y exantema en una extremidad inferior. Los resultados de las pruebas de función hepática fueron moderadamente anormales. El hematócrito y el recuento leucocítico fueron normales. El nitrógeno ureico en sangre fue de 54 mg/100 ml (cifra normal, 10 a 24 mg/100 ml) y su creatinina sérica fue 2.8 mg/100 ml (cifra normal, 0.6 a 1.2 mg/100 ml). En la orina hubo 4+ de proteína y más de 50 eritrocitos por campo de alto poder. En la biopsia de piel se observó vasculitis leucocitoclástica. Se diagnosticó crioglobulinemia.

Cuatro años después del trasplante los resultados de las pruebas de función hepática permanecieron normales, con excepción de incrementos leves e intermitentes de AST y ALT. Las biopsias de hígado de seguimiento han indicado cambios grasos moderados a intensos con leve inflamación portal mononuclear. El enfermo sigue siendo un diabético insulinodependiente. Su función renal es moderadamente anormal y su creatinina sérica es de 1.4 mg/100 ml, en promedio. Su calidad de vida es buena. En la actualidad se mantiene con tacrolimús y prednisona. En comparación con otros receptores de trasplante de hígado, el paciente de este caso está expuesto a un mayor peligro de presentar cirrosis y de perder el injerto.

Comentario

Las personas a quienes se trasplanta un órgano presentan las infecciones más importantes y letales en los primeros meses después de dicho procedimiento. Los factores que existían antes del injerto pueden ser importantes. La enfermedad subyacente puede contribuir a la susceptibilidad a la infección. Es posible que la persona no tenga inmunidad específica (quizá nunca se expuso al contagio con citomegalovirus), pero el órgano trasplantado pudiera provenir de un donador que tiene dicho virus, o se podría transmitir por transfusión sanguínea. El enfermo puede tener una infección latente que se torne activa en el periodo de inmunodepresión después del trasplante; entre los ejemplos están infecciones por virus de herpes simple, varicela-zoster, citomegalovirus y otras, incluida tuberculosis. Es posible que el sujeto recibiera inmunodepresores antes del trasplante.

Un factor importante que rige la aparición de infección es el tipo de trasplante: hígado, corazón, pulmón, riñón, etc. La duración y complejidad del método operatorio también son importantes. Las infecciones tienden a afectar el órgano injertado o guardan relación con él. En el caso del trasplante de hígado la cirugía es compleja y dura varias horas. El tipo de drenaje de bilis que se logre es un factor determinante de la infección abdominal. La conexión directa de las vías biliares del donador con el intestino delgado del receptor (coledocoyeyunostomía) predispone a una infección de vías biliares en mayor grado de lo que ocurre con la conexión de las vías biliares del donador con las vías biliares existentes del receptor (coledococoledocostomía). Los receptores de trasplante de hígado cuya cirugía dura 5 a 10 h en promedio tienen un episodio de infección después del trasplante, en tanto que aquellos en quienes la operación dura más de 25 h presentarán, en promedio, tres episodios de infección. Los receptores de trasplante de hígado están predispuestos a desarrollar hepatitis y neumonía por citomegalovirus. Los receptores de corazón-pulmones están propensos a padecer neumonía por citomegalovirus. El ganciclovir administrado en los comienzos del periodo posterior al trasplante es eficaz para disminuir el impacto de la enfermedad por citomegalovirus después del injerto. Otros fármacos que se usan frecuentemente para evitar la infección después del trasplante incluyen: aciclovir contra el herpes simple y la varicela-zoster; trimetoprim-sulfametoxazol contra la neumonía por *Pneumocystis*; anfotericina B u otros antimicóticos contra micosis y en particular candidosis y aspergilosis; isoniazida contra la tuberculosis y una cefalosporina de tercera generación u otros antibióticos contra infecciones bacterianas. Es frecuente que antes de la operación, durante ella y poco después, se administren antibióticos para evitar infecciones de la herida quirúrgica y otras que guardan relación directa con el procedimiento.

El tratamiento con inmunodepresores en receptores de trasplante también predispone a infecciones. Los corticoesteroides en dosis grandes que se usan para evitar el rechazo o la enfermedad de injerto contra hospedador inhiben la proliferación de linfocitos T, la inmunidad que depende de linfocitos T y la expresión de los genes de citocina, y ejercen efectos importantes en la inmunidad celular, la formación de anticuerpos y la inflamación. La administración de dosis grandes de corticoesteroides hace que los pacientes fácilmente presenten micosis y otras infecciones. La ciclosporina, un péptido, y tacrolimús, un macrólido, actúan en la función de los linfocitos T para evitar el rechazo. También se utilizan otros medicamentos inmunodepresores y el suero antilinfocítico. En forma global, los agentes inmunodepresores preparan el terreno para que surjan infecciones en los receptores de trasplantes.

El Caso 19 (más adelante) corresponde a una persona a quien se trasplantó médula ósea e incluye comentarios sobre las infecciones que aparecen en dicha situación.

REFERENCIAS

Fishman JA, Rubin RH: Infection in organ transplant recipients. N Engl J Med 2007;357:2601. [PMID: 18094380]

Pizzo PA: Fever in immunocompromised patients. N Engl J Med 1999;341:893. [PMID: 10486422]

CASO 19: TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA

Un varón de 30 años que tenía leucemia mielógena crónica se sometió a trasplante alógeno de médula ósea obtenida de un hermano donador con compatibilidad de HLA. Antes del trasplante se le aplicó radiación corporal total y recibió dosis grandes de ciclofosfamida para destruir de manera permanente sus células de leucemia, las hematopoyéticas y las linfoides.

La primera complicación infecciosa surgió 10 días después del trasplante, antes de que se aceptara el injerto. El enfermo tuvo mucositis, enteritis y neutropenia profunda y su recuento de leucocitos fue de 100 células/μl (cifras normales, 3 400 a 10 000 células/μl). Recibía con fin profiláctico ceftazidima, dosis pequeñas de anfotericina B, aciclovir y trimetoprim/sulfametoxazol. Sin embargo, presentó fiebre de 39°C y su aspecto era de enfermo. La impresión clínica fue probable septicemia bacteriana vinculada con la neutropenia y el origen posible era en la cavidad bucal o el aparato gastrointestinal. Otra posibilidad fue que la infección provenía del catéter central utilizado para su tratamiento intravenoso. También existía la posibilidad de una enfermedad micótica por *Candida* en la sangre o neumonía por *Aspergillus*; sin embargo, las infecciones mencionadas por lo común aparecen más adelante, después del trasplante alógeno de médula ósea. Poco después del trasplante se había comenzado la administración de ciclosporina y prednisona en dosis pequeñas, para evitar la enfermedad de injerto contra hospedador, que lo hubiera predispuesto a infecciones por otros oportunistas, pero también existía una menor posibilidad de que surgiera en las primeras semanas después del trasplante.

En el décimo día después del trasplante su cuadro empeoró, y se pensó que tenía una infección bacteriana. Se practicó hemocultivo y la protección contra gramnegativos por medio de antibióticos cambió de ceftazidima a ciprofloxacina. Se agregó vancomicina mientras llegaban los resultados del hemocultivo. En el día 12 se señaló que en el hemocultivo de sangre se habían identificado estreptococos viridans. El enfermo mejoró, y se continuó la antibioticoterapia hasta que el número de leucocitos aumentó a más de 1 000 células/μl.

Treinta días después del trasplante el paciente se dio de alta para atención domiciliaria. Se había logrado la aceptación del injerto y no existía neutropenia, pero recibía ciclosporina y prednisona para la enfermedad de injerto contra hospedador leve.

Sesenta días después del trasplante el sujeto presentó fiebre, náusea, dolor epigástrico intenso y diarrea. La impresión clínica fue que se trataba de enteritis por citomegalovirus o empeoramiento de la enfermedad de injerto contra hospedador que afectaba al tubo digestivo. Entre los días 30 y 60 poco a poco se habían disminuido las dosis de ciclosporina y prednisona, en la medida en que se había estabilizado su enfermedad de injerto contra hospedador. En el día 60, el sujeto fue hospitalizado y se hizo una endoscopia del tubo digestivo alto y bajo. Se identificaron lesiones de la mucosa compatibles con una infección por citomegalovirus y se tomaron muestras para biopsia. En el estudio histológico se identificaron grandes cuerpos de inclusión intranucleares compatibles con una infección por citomegalovirus. Los cultivos fueron positivos para citomegalovirus. Se administró ganciclovir y el paciente se recuperó de su trastorno.

La evolución del enfermo fue satisfactoria hasta el día 120, en que surgieron anormalidades en los resultados de sus pruebas de función hepática, y diarrea. Por colonoscopia se hizo el diagnóstico de empeoramiento en la enfermedad de injerto contra hospedador. Se aumentaron las dosis de ciclosporina y prednisona.

En el día 150 después del trasplante el paciente presentó fiebre y tos y se detectaron múltiples infiltrados pulmonares. El diagnóstico más probable era neumonía micótica, tal vez por alguna especie de *Aspergillus,* aunque también existía la posibilidad de ataque por *P. jiroveci* y neumonía viral. Se practicó broncoscopia con lavado y obtención de fragmentos transbronquiales para biopsia. En el cultivo del tejido para biopsia proliferó *Aspergillus fumigatus.* Se administraron las dosis máximas de anfotericina B que pudiera tolerar el enfermo, como se decidió después de la vigilancia seriada de su función renal. La terapia en cuestión se continuó durante dos semanas en el hospital y después diariamente en forma ambulatoria durante tres semanas más. También se intentó disminuir las dosis de ciclosporina y prednisona.

En el día 300 el paciente no tenía infecciones por oportunistas. Su enfermedad de injerto contra hospedador cedió y poco a poco se disminuyeron las dosis de ciclosporina y prednisona hasta interrumpir el uso de ambos fármacos. Su leucemia mielógena crónica permaneció en estado de remisión. Volvió a trabajar tiempo completo 330 días después del trasplante de médula ósea.

Comentario

Las personas a quienes se injerta médula ósea reciben quimioterapia y radioterapia de ablación para destruir sus sistemas hematopoyético e inmunitario. El resultado es la neutropenia

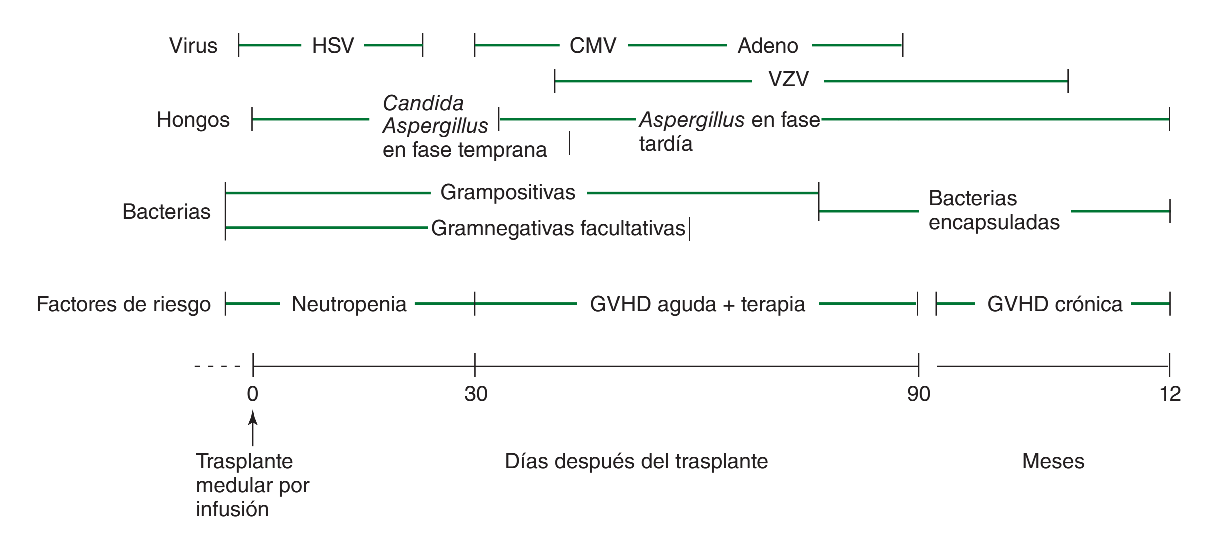


FIGURA 48-1 Factores predisponentes de riesgo y elevada incidencia de infecciones, según las etapas después del trasplante de citoblastos humanos (GVHD, enfermedad de injerto contra hospedador.) (Modificada con autorización de Abeloff MD, Armitage JO, Niederhuber JE et al: *Clinical Oncology*, 3rd ed. Elsevier, 2004.)

profunda y anormalidades de la inmunidad celular hasta que la médula ósea es aceptada. A causa de la neutropenia los receptores de trasplante de médula ósea están expuestos en particular a un elevado peligro de infecciones, en comparación con pacientes que reciben órganos sólidos y que no muestran neutropenia. Los receptores de trasplante alógeno de médula ósea también están expuestos al peligro de enfermedad de injerto contra hospedador, situación que no se observa en individuos en quienes se practica trasplante autólogo de médula ósea (es decir, reciben su propia médula ósea o hematoblastos obtenidos previamente). El tratamiento inmunodepresor que se utiliza para controlar la enfermedad de injerto contra hospedador también crea un terreno en que los enfermos están expuestos al gran peligro de presentar infecciones.

En la figura 48-1 se señalan las infecciones y los momentos en que posiblemente aparezcan. En el primer mes después del trasplante, antes de que sea aceptado, se advierte neutropenia profunda y daño de las superficies mucosas, por la quimioterapia y la radioterapia previas al trasplante. Los enfermos están expuestos al máximo riesgo de infecciones por bacterias gramnegativas y grampositivas que suelen ser parte de la flora normal de la piel, y de los aparatos gastrointestinal y respiratorio. Para esa fecha también se observan las infecciones recurrentes por virus de herpes simple.

En el segundo y el tercer meses después que ha sido aceptado el injerto persiste la deficiencia de la inmunidad humoral y celular; tal deficiencia es más grave y persistente en individuos con enfermedad de injerto contra hospedador. Las infecciones principales son neumonía intersticial (en promedio, la mitad de los casos son causados por citomegalovirus), la neumonía por *Aspergillus*, bacteriemia, candidemia, e infecciones respiratorias virales.

Después de tres meses del trasplante, se recupera poco a poco la inmunidad humoral y la celular; tal reconstitución tarda uno a dos años y puede mostrar deficiencia notable por la aparición de la enfermedad de injerto contra hospedador crónica. Los sujetos están en peligro de infecciones por virus de varicela-zoster y otras de las vías respiratorias, por lo común por bacterias encapsuladas como *S. pneumoniae* (cap. 14) y *H. influenzae* (cap. 18).

Los antimicrobianos profilácticos se utilizan sistemáticamente en los receptores de trasplante de médula ósea. Se administra durante seis meses trimetoprim/sulfametozaxol o por el tiempo que dura la inmunodepresión, para evitar la neumonía por *Pneumocystis.* El aciclovir se administra desde el momento del trasplante hasta que es aceptado por el organismo, para evitar la infección por herpes simple. El ganciclovir intravenoso a menudo se administra poco después del trasplante, para seguir con aciclovir o ganciclovir por vía oral, y así evitar la citomegalia grave; el empleo de ambos medicamentos como profilácticos varía y depende del hecho de si el donador, el receptor o ambos presentaron signos de infección previa por el virus mencionado. Durante el periodo de aceptación del injerto se pueden administrar fluoroquinolonas o cefalosporinas de tercera generación para evitar infecciones bacterianas. También se pueden usar antimicóticos como anfotericina B o fluconazol como profilaxis para las micosis. No hay consenso en el empleo de vancomicina para evitar infecciones por bacterias grampositivas, en parte por el fenómeno posible de selección de enterococos resistentes a tal antibiótico.

Una vez que se recupera la función normal del sistema inmunitario, habrá que pensar en la vacunación de nuevo con toxoides de tétanos y difteria, vacuna polisacárida neumocócica y de *H. influenzae* y vacunas con virus muertos (como la de poliomielitis o de influenza).

REFERENCIA

Young JH, Weisdorf D: Infections in recipients of hematopoietic stem cell transplantation. In *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases,* 7th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone Elsevier , 2010, p. 3821.

GUERRA BIOLÓGICA Y BIOTERRORISMO

La amenaza sombría de la guerra biológica y del bioterrorismo es real. Nadie en este planeta está a salvo de sus posibles consecuencias. Más adelante se resumirá el ataque bioterrorista por carbunco en Estados Unidos en el otoño de 2001. También se describirá un caso de peste y brotes de sarampión y botulismo, naturales. Con los casos en cuestión y los comentarios acompañantes se busca crear en el lector conciencia de la importancia y de las consecuencias posibles de la guerra biológica y del bioterrorismo.

CASO 20: CARBUNCO COMO FORMA DE BIOTERRORISMO EN ESTADOS UNIDOS, 2001

Caso índice en el sur de Florida

El 2 de octubre de 2001 un varón de 63 años fue llevado al departamento de urgencias de un centro médico del sur de Florida, por fiebre, vómito y confusión. Cuatro días antes había presentado fiebre, mialgias y malestar general, sin síntomas focales específicos. Tenía el antecedente de una cardiopatía leve, pero por lo demás tenía buena salud.

En la exploración física se observó que estaba letárgico y desorientado. Su temperatura era de 39°C, su presión arterial de 150/80 mmHg, su pulso de 110 latidos/min y tenía 18 respiraciones/min. La única anormalidad posible que se detectó como un dato adicional en la exploración física fue la presencia de roncus al auscultar el tórax. No se percibieron estertores. El enfermo no mostró rigidez de la nuca ni signos de Kernig y Brudzinski. Se practicaron múltiples cultivos de sangre. Antes de una punción lumbar se comenzó la administración de cefotaxina y vancomicina intravenosas.

El hematócrito del enfermo fue de 46%; su recuento leucocítico, de 9 400 células/μl, de las cuales 77% era PMN, 15% linfocitos y 8%, monocitos. Los resultados de su química sanguínea fueron normales. En la primera radiografía de tórax (consultar N Engl J Med 2001;354:1607) se identificaron infiltrados en zonas basales y ensanchamiento del mediastino. El LCR obtenido en la punción lumbar era turbio, con una concentración de glucosa de 57 mg/100 ml, proteínas de 666 mg/100 ml y 4 750 leucocitos/μl, de los cuales 81% era PMN y 19% monocitos. El líquido mencionado también contenía eritrocitos. La tinción de Gram del LCR mostró innumerables PMN y numerosos bacilos grampositivos grandes, a menudo en cadenas. Se pensó en carbunco como diagnóstico y se agregó al régimen terapéutico penicilina G intravenosa.

El laboratorio del centro médico identificó *Bacillus anthracis* (cap. 11) 18 h después del cultivo del LCR, y se identificó el mismo bacilo en los hemocultivos. En el segundo día de su estancia hospitalaria el enfermo tuvo una convulsión generalizada. Se le colocó una sonda endotraqueal y se inició la ventilación asistida. Desarrolló hipotensión arterial e insuficiencia renal. El enfermo falleció en el tercer día de su permanencia en el hospital.

En la necropsia se observó edema tisular generalizado con exceso de líquido en la cavidad peritoneal. Se detectó colapso parcial de los pulmones sin signo de consolidación en el parénquima. Se identificaron áreas de hemorragia subpleural y perivascular y también hubo abundante sangre en el mediastino y hemorragia en ganglios linfáticos. El corazón, el hígado y el bazo fueron normales y no se estudió el cerebro.

El enfermo trabajaba como coordinador fotográfico de un gran tabloide en el condado de Palm Beach, Florida. El 19 de septiembre de 2001 él revisaba una carta que describieron sus colaboradores como sospechosa, pues contenía polvo. Nunca se halló la carta. Se identificó en cultivo *B. anthracis (*cap. 11) en 20 de 136 muestras ambientales sometidas a investigación del 8 a 10 de octubre de ese año. Los cultivos positivos incluyeron dos de 21 que estaban dentro del área de trabajo del paciente. Se identificaron otros cultivos positivos en el cuarto de correo de la compañía, en el vehículo en que se transportaba el correo y en la oficina de un portador asintomático de la correspondencia, quien presentó un cultivo nasal positivo para *B. anthracis*. Entre el 25 de octubre y el 8 de noviembre de ese año se detectaron más cultivos positivos de otras zonas del sitio laboral. Se recomendó un programa profiláctico con antibióticos a más de 1 000 personas.

Un segundo paciente que trabajaba en la compañía editora y que había estado expuesto extensamente a correspondencia propia del trabajo, comenzó a mostrar signos de enfermedad el 28 de septiembre de 2001 y su caso fue notificado como causado por la posible inhalación del bacilo de carbunco el 4 de octubre. Se le hospitalizó el 1o. de octubre y se comenzó la antibioticoterapia. En el exudado nasal obtenido el 5 de octubre de ese año se identificó *B. anthracis*, pero no se detectó dicho germen en los cultivos de sangre, lavado bronquial y líquido pleural obtenidos después de comenzar la antibioticoterapia. En dos muestras de líquido pleural se detectó *B. anthracis* por medio de la reacción en cadena de la polimerasa. De esa manera, este paciente constituyó el segundo caso de carbunco por inhalación. Sobrevivió y fue dado de alta del hospital el 17 de octubre de 2001.

Zona de Washington DC, Nueva York, Nueva Jersey y Connecticut

El 18 de septiembre del año 2001 se envió desde Trenton, Nueva Jersey, una carta que contenía una gran cantidad de esporas de *B. anthracis* dirigida al "Coordinador Editorial del New York Post". Se envío otra carta idéntica, en la misma fecha, al encargado de noticias de la televisión NBC. El 9 de octubre de 2001 fueron enviadas dos cartas casi iguales desde el mismo sitio a las oficinas de dos senadores estadounidenses en el Distrito de Columbia y cada una contenía una gran cantidad de esporas de *B. anthracis* muy refinadas y preparadas. Las cuatro cartas contaminaron los edificios del servicio postal y el equipo, salas de correo y oficinas a las que fueron dirigidas, y tal vez otras salas de correos.

Se produjeron 22 casos de carbunco en total, incluidos los casos de Florida, como consecuencia de las cartas contaminadas. Hubo 11 casos de carbunco por inhalación confirmado por el laboratorio, y de ellos cinco personas murieron. Se produjeron 11 casos de carbunco cutáneo, nueve confirmados por el laboratorio y dos más por sospecha. Los casos se produjeron en el sur de Florida (descritos en párrafos anteriores), Nueva Jersey, la zona del Distrito de Columbia, Nueva York y Connecticut, y afectaron más bien a personas que trabajaban en instalaciones

postales de Nueva Jersey y de la zona del Distrito de Columbia, que contaban con equipo de alta velocidad para el manejo de correspondencia y a personas que trabajan en salas en que se abrían o manejaban cartas y otros artículos. En algunos de los casos, incluidos los que culminaron en la muerte, en Nueva York y en Connecticut no se pudo obtener detalle alguno de exposición.

Miles de personas en Florida, el Distrito de Columbia, Nueva Jersey y Nueva York, con posible exposición a *B. anthracis,* recibieron profilaxis antimicrobiana. Se planteó el uso de una vacuna experimental contra el carbunco en las personas expuestas. Los sitios contaminados fueron cerrados y descontaminados. Se emitió una alerta a nivel nacional y tal vez mundial sobre el peligro del carbunco, y gobiernos e instituciones locales invirtieron grandes recursos. Todo lo anterior se produjo a gran costo. Es posible que durante algún tiempo persista el estado de alerta de la investigación y la necesidad de invertir más recursos.

REFERENCIAS

Bioterrorism-related anthrax. Emerg Infect Dis 2002;8(No. 10). Entire issue (31 articles).

Bush LM et al: Index case of fatal inhalation anthrax due to bioterrorism in the United States. N Engl J Med 2001;345:1607. [PMID: 11704685]

Kyriacou DN, Adamski A, Khardori N: Anthrax: from antiquity and obscurity to a front-runner in bioterrorism. Infect Dis Clin North Am 2006;20:227.

CASO 21: UN BROTE DE VIRUELA

El último caso de viruela que ocurrió en Yugoslavia se produjo en 1927. En dicho país, se continuó la vacunación a nivel nacional para proteger a los habitantes contra los casos importados. En 1972, un peregrino que volvía de la Meca cayó enfermo por un cuadro febril no diagnosticado. Amigos y parientes lo visitaron de diversas áreas; dos semanas más tarde 11 de los visitantes enfermaron con fiebre elevada y exantema. Los pacientes desconocían la naturaleza de su mal y sus médicos, de los cuales pocos habían atendido algún caso de viruela, no hicieron el diagnóstico preciso.

Uno de los 11 enfermos fue un maestro de 30 años que en muy breve plazo entró en una fase muy grave con viruela hemorrágica, forma que no pudo ser diagnosticada en un lapso razonable por los expertos. El maestro recibió en primer lugar penicilina en una clínica local. Se agravó cada vez más y fue llevado a una sala de dermatología en un hospital general y después a otra similar en la capital y, por último, a una unidad de cuidados intensivos, porque sangraba profusamente y estaba en choque. Falleció antes de que se hiciera el diagnóstico definitivo y fue enterrado dos días antes de que se identificara el primer caso de viruela.

Los primeros casos fueron diagnosticados con exactitud cuatro semanas después de que enfermó el primer paciente, pero para esa fecha se habían infectado 150 personas; de ellas, 30 se infectaron por el joven maestro (entre los que se encontraban dos médicos, dos enfermeras y otros cuatro miembros del personal del hospital). Los casos se produjeron en zonas muy distantes de dicha república. Para la fecha del diagnóstico, los 150 casos secundarios habían comenzado a exponer a otra generación de casos. Surgieron dudas sobre el número de otros casos no detectados.

Las autoridades sanitarias emprendieron una campaña de vacunación a nivel nacional; se establecieron clínicas para vacunación masiva y puntos de revisión en carreteras para revisar los certificados de vacunación. Se vacunaron 20 millones de personas. Se investigaron hoteles y departamentos residenciales, que fueron acordonados por el ejército y se obligó a todos los contactos conocidos de los casos a ser concentrados en dichos centros, bajo vigilancia militar. En promedio 10 000 personas estuvieron detenidas y aisladas durante dos semanas o más. Mientras tanto, países vecinos cerraron sus fronteras. Nueve semanas después de que enfermó el primer paciente cesó el brote. En forma global, 175 personas presentaron la viruela y de ellas 35 fallecieron.

REFERENCIA

Henderson DA: Bioterrorism as a public health threat. Emerg Infect Dis 1998; 4:488. (http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no3/hendrsn.htm)

CASO 22: PESTE

El 2 de agosto de 1996, un varón de 18 años que vivía en Flagstaff, Arizona, fue llevado a una clínica ambulatoria porque durante dos días había presentado fiebre, dolor en la ingle izquierda y diarrea. Al ser explorado no tenía fiebre, pero el pulso era de 126 latidos/min, tenía 20 respiraciones por minuto y su presión arterial era de 130/80 mmHg. Se detectó hinchazón y dolor a la palpación en la ingle izquierda. Se hizo el diagnóstico de distensión de un músculo de esa zona y se atribuyó a una caída dos días antes. Se le administraron antiinflamatorios no esteroideos, se le señaló que recibiera una dieta líquida y se envió a su hogar. El 3 de agosto, el joven señaló que se sentía débil, tenía dificultad para respirar y se desmayó mientras se bañaba. Se solicitaron los servicios de urgencia y mientras los técnicos médicos lo atendían presentó un paro cardiaco. Fue llevado al departamento de urgencias del hospital y se le declaró muerto poco después de llegar a él.

El 8 de agosto, en los hemocultivos de sangre obtenida en el departamento de urgencias, en forma presuncional se detectó *Yersinia pestis,* por tinción por anticuerpos fluorescentes, dato que se confirmó por lisis específica por bacteriófago en el laboratorio del Departamento de Salud del Estado de Arizona. En los CDC se confirmó la identidad de *Y. pestis* en otras muestras obtenidas del cerebro, el hígado, el pulmón y el humor vítreo, ob-

tenidas en la necropsia. Una investigación epidemiológica hecha por funcionarios sanitarios señaló que muy probablemente el joven se infectó el 27 de julio como consecuencia de picaduras de pulgas infectadas por *Y. pestis* al caminar por una colonia de perros de las praderas (*Cynomys gunnisoni*) en el condado Navajo. En dos de cuatro perros que eran mascota y que vivían en casas cercanas a la colonia de los perros se identificaron títulos altos de anticuerpos contra dicho microorganismo. Se señaló a los dueños el peligro de que presentaran peste; se les pidió que encadenaran a los animales y que periódicamente les aplicaran un insecticida en polvo. También se regó insecticida para controlar la población de pulgas en las madrigueras de los perros de las praderas que estaban dentro de un radio de 800 m de las residencias.

REFERENCIAS

Fatal human plague—Arizona and Colorado, 1996. MMWR, Morb Mortal Wkly Rep 1997;46:617.

Stenseth NC et al: Plague: Past, present, and future. PLoS Med 2008;15:5:e3.

CASO 23: UN BROTE DE BOTULISMO

En los meses de agosto y octubre de 1993 funcionarios de salud pública en Italia fueron notificados de nueve casos de botulismo de tipo B, de dos brotes en diferentes comunidades al parecer sin relación alguna. El resumen siguiente incluye las investigaciones hechas por el *Regional Health Observatory of Campania* y del *Italian National Institute of Health*. El trastorno se vinculó con el consumo de berenjenas en aceite, asadas y distribuidas comercialmente.

Brote 1

El 14 de agosto, dos meseras que trabajaban en una barra que servía emparedados en Santa Maria de Castellabate, fueron llevadas al hospital local por disfagia, diplopía y estreñimiento. Se hizo en ellas el diagnóstico clínico de botulismo. El 12 de agosto, las víctimas se habían preparado y consumido emparedados de jamón, queso y berenjenas. Una tercera mesera también consumió los emparedados y presentó dispepsia y se le indujo vómito. No mostró síntomas neurológicos. El propietario del local, que había probado un pedazo de la berenjena del mismo frasco, el 12 de agosto, no presentó síntomas. El cocinero que abrió originalmente el frasco de las berenjenas en aceite, asadas, rebanadas y distribuidas en el comercio y que había probado el contenido el 11 de agosto, presentó diarrea. El cocinero y el propietario señalaron que las berenjenas sabían a un alimento descompuesto.

Se hizo el diagnóstico presuncional de botulismo en las dos pacientes hospitalizadas y ambas recibieron antitoxina trivalente contra la enfermedad, y mejoraron poco a poco. No se contó con muestras de alimento para estudios ni se detectó la toxina botulínica en el suero de las dos meseras hospitalizadas. Sin embargo, más adelante los coprocultivos indicaron la presencia de *Clostridium botulinum* tipo B (caps. 11 y 21).

Brote 2

El 5 y el 6 de octubre, cuatro de nueve personas de una familia amplia que habían comido juntos el 2 de octubre fueron hospitalizadas en Nápoles por la sospecha de botulismo. La comida consistió en aceitunas verdes, jamón, ensalada de judías y hortalizas, queso mozzarella, chorizo y berenjena preparada comercialmente. Con base en la investigación y el análisis de los antecedentes alimentarios se implicó a la berenjena como el origen probable de los trastornos (riesgo relativo, no definido; $P < 0.01$). Los pacientes recibieron antitoxina equivalente contra el botulismo y poco a poco mejoraron. La investigación indicó que el 27 de septiembre otro miembro de la familia había abierto y mojado un tenedor en el frasco sospechoso con la berenjena; no comió de dicha conserva, pero usó el tenedor para tomar otros alimentos. El 28 de septiembre comenzó a mostrar vómito, disfagia y diplopía pero no fue hospitalizado; sus síntomas cedieron espontáneamente. El 8 de octubre no tenía síntomas, pero fue hospitalizado y recibió antitoxina trivalente contra el botulismo después de haber diagnosticado la enfermedad en otros miembros de la familia.

Uno de los sujetos hospitalizados desarrolló debilidad de los músculos respiratorios y requirió ventilación mecánica. La muestra de suero de un enfermo no indicó la presencia de toxina botulínica. Los cultivos de muestras de heces de tres pacientes señalaron la presencia de *C. botulinum* tipo B proteolítico. No se pudo obtener berenjena para estudios.

Estudios de seguimiento

La berenjena preparada y distribuida comercialmente, sospechosa de ocasionar ambos brotes, fue producida por una compañía y vendida únicamente en Italia. El señalamiento de dicha compañía en relación con la preparación de dicho alimento fue: se lavaron y durante toda una noche, se marinaron las rebanadas de berenjena en una solución de agua, vinagre y sal de mesa; se asaron y más adelante se colocaron en recipientes de vidrio. Se agregaron ajo, pimientos, orégano y ácido cítrico. Las mezclas fueron cubiertas con aceite de girasol y se sellaron con una técnica de tapa hermética; después de llenados los recipientes hirvieron en agua durante 30 min. No se midió frecuentemente el pH del producto. Se estudió un total de 119 frascos de la berenjena del mismo lote que produjo los brotes, y no se detectaron esporas de *C. botulinum* ni toxina botulínica. El pH del producto varió de 3.9 a 5.1 y en 24 de los frascos cuyo contenido se estudió el pH fue mayor de 4.6 (20%).

REFERENCIAS

Type B botulism associated with roasted eggplant in oil—Italy, 1993. MMWR, Morb Mortal Wkly Rep 1995;44:33.

Villar RG, Elliott SP, Davenport KM: Botulism: The many faces of botulinum toxin and its potential for bioterrorism. Infect Dis Clin North Am 2006;313.

Breve historia de la guerra biológica

En los meses de agosto y de octubre de 1993, los funcionarios de salud pública en Italia recibieron la notificación de siete casos de botulismo tipo B, de dos brotes en comunidades diferentes,

al parecer sin relación alguna. Los apartados siguientes resumen las investigaciones del *Regional Health Observatory of Campania* y del *Italian National Institute of Health* . Los trastornos provinieron del consumo de berenjenas en aceite, asadas y distribuidas comercialmente.

En el siglo XVIII en la guerra entre franceses e indígenas estadounidenses (1754-1767) se propagó la viruela. El 24 de junio de 1763 un oficial británico regaló mantas que contenían fómites provenientes de un hospital para variolosos, a estadounidenses nativos en el valle del río Ohio; surgió así una epidemia de viruela entre los indígenas. La viruela entre estadounidenses europeos quizá contribuyó al problema.

En la Primera Guerra Mundial se consideró que Alemania había utilizado *B. anthracis* y *Burkholderia mallei* (cap. 16) para contaminar secretamente alimentos para animales y animales de colaboradores neutrales que comerciaban con los Aliados.

Entre 1932 y 1945 Japón tenía en Harbin, China, un programa para la creación de armas biológicas. Se identificaron 150 edificios, cinco campos satélite y 3 000 científicos y, como mínimo atacaron a 11 ciudades chinas. Los microorganismos fueron *B. anthracis, N. meningitidis* (cap. 20), especies de *Shigella* (cap. 15), *V. cholerae* (cap. 17), y *Y. pestis* (cap. 19). Fueron contaminados alimentos y aguas. Se arrojaron cultivos a las casas y se regaron aerosoles desde aviones. Desde tales vehículos se dispersaron 15 millones de pulgas infectadas de peste en cada ataque. Diez mil prisioneros fallecieron por infecciones experimentales. Las tropas japonesas sufrieron 10 000 bajas y 1 700 muertes. Se calcula que en las aldeas fallecieron 270 000 personas.

Entre 1942 y 1969 Estados Unidos tenía un programa de armas biológicas en Fort Detrick, Maryland, y sitios de prueba en Mississippi y Utah. Los sitios de producción se localizaron en Terre Haute, Indiana y Pine Bluff, Arkansas. Los agentes biológicos preparados y almacenados fueron *B. anthracis*, toxina botulínica, *Francisella tularensis* (cap. 18), *Brucella suis* (cap. 18), *Coxiella burnetii* (cap. 26), enterotoxina B estafilocócica y virus de la encefalitis equina venezolana (cap. 38). La capacidad bélica de productos biológicos fue destruida entre 1971 y 1973.

En la década de 1940 las fuerzas aliadas intentaron crear armas biológicas de guerra con *B. anthracis.* En experimentos con bombas, una isla pequeña fue contaminada y declarada insegura (la isla Gruinard en el Mar del Norte, lejos de la costa de Escocia). En dicha isla persistieron las esporas viables de *B. anthracis.* En 1986 se descontaminó la isla a un gran costo con formol y agua de mar (cap. 15).

En 1984 seguidores del culto Rajneeshee utilizaron *Salmonella typhimurium* para contaminar las ensaladas en la barra de 10 restaurantes en The Dalles, Oregon. Se produjeron 751 casos de enteritis y 45 hospitalizaciones.

En la década de 1990 los seguidores del culto Aum Shinrikyo supuestamente lanzaron tres ataques con armas biológicas, infructuosamente en Japón, y para ello utilizaron *B. anthracis* y toxina botulínica. En 1992 enviaron miembros a la antigua Zaire para obtener virus Ébola y así crear armas biológicas. En marzo de 1995 esparcieron el gas sarin en el sistema del Metro de Tokio y murieron 12 personas.

En 1996, se produjo un brote por *Shigella dysenteriae* (cap. 15) tipo 2 en 12 de 45 trabajadores de laboratorio de un hospital. La cepa de *Shigella* fue idéntica a la del conjunto de cultivos almacenados en un congelador del laboratorio de microbiología de ese hospital. Un desconocido contaminó roscas y muffins y las colocó en la salita en donde el personal consumía bocadillos y bebidas. Alguien reveló la presencia de los dos alimentos contaminados por correo electrónico, y para ello se valió de la computadora de un supervisor que en ese momento estaba ausente.

Desde finales de la década de 1990 ha habido cientos o tal vez miles de amenazas, transmitidas por correo, de propagar *B. anthracis* por sistemas de ventilación de edificios. En Estados Unidos varias organizaciones gubernamentales investigaron tales situaciones, a gran costo. Al final se comprobó que dichas situaciones eran falsas, hasta el otoño de 2001.

REFERENCIA

Christopher GW et al: Biologic warfare: A historical perspective. JAMA 1997;278:412. [PMID: 9244333]

El brote de carbunco de Sverdlovsk en 1979

Sverdlovsk (Yekaterinburgo) es una ciudad de 1.2 millones de habitantes, a 1 400 km al oriente de Moscú. Está en la vertiente oriental de los Montes Urales, en la frontera entre Europa y Asia. Ahí fueron asesinados el último zar de Rusia y su familia. En ella había grandes fábricas de armamento ahora clausuradas. En 1979, Boris Yeltsin era el secretario general del Partido Comunista de la región.

En abril de 1979 se produjo en esa ciudad un brote de carbunco por inhalación. El primer caso se registró el 4 de abril y en las seis semanas siguientes hubo un total de 77 casos corroborados, con 66 fallecimientos (la revisión ulterior señaló que hubo 79 casos y 68 fallecimientos). La enfermedad se manifestó en 55 varones que tenían un promedio de edad de 42 años; ningún varón tuvo menos de 24 años. El ataque incluyó 22 mujeres con una media de edad de 55 años; solamente dos de ellas, de 24 y 32 años, tenían menos de 40 años. No hubo niños infectados, lo cual no se pudo explicar, porque los menores estuvieron en peligro.

En orden de frecuencia, los signos y síntomas fueron fiebre, disnea, tos, cefalea, vómito, escalofríos, debilidad, dolor en abdomen y en el tórax.

En el comienzo los enfermos fueron internados en sus hospitales y clínicas locales. A partir del 12 de abril de 1979, los que tenían fiebre alta u otros signos de posible carbunco fueron concentrados en el hospital número 40 de la ciudad.

En la región de la ciudad en que vivía gran parte de los pacientes, brigadas de bomberos lavaron los exteriores de edificios y los árboles. Fueron eliminados perros callejeros, y se pavimentaron calles. Carteles y periódicos advirtieron en contra del consumo de carne no inspeccionada. (Inicialmente se dijo que el brote había constituido carbunco gastrointestinal, en personas que consumieron carne descompuesta.)

Desde mediados de abril se inició un programa de vacunación voluntaria para personas sanas de 18 a 55 años de edad y para ello se utilizó una vacuna a base de esporas no encapsuladas. Se seleccionaron 59 000 personas y 80% de ellas recibió la vacuna cuando menos una vez.

Gran parte de las 77 personas enfermas vivía y trabajaba en la zona meridional de la ciudad. Algunas acudían a clases de la reserva militar o tenían otras razones para situarse en esa área.

Otros individuos tenían trabajos que los acercaron a esa zona de la ciudad; 60 de los 66 casos identificados geográficamente, pertenecían a una zona angosta de unos 4 km de longitud que se situaba desde el sur, en una instalación militar de microbiología hasta el límite meridional de la ciudad.

En un área mayor de 50 km al sur de Sverdlovsk, se mataron o sacrificaron obligatoriamente corderos y vacas. Los animales pertenecían a seis aldeas, todas dentro del área sur de la instalación militar de microbiología. El carbunco en animales ha sido enzoótico en la región de Sverdlovsk desde antes de la Revolución rusa, pero los casos registrados en animales en 1979 se produjeron en las zonas a favor del viento, al sur de la instalación militar de microbiología.

Los registros meteorológicos del aeropuerto que situado a 10 km al este de la ciudad, indicaron que solamente el lunes 2 de abril de 1979, los vientos provenían del norte. Todo lo anterior supone que en los casos de carbunco en humanos y animales fueron consecuencia de la propagación de *B. anthracis* en la instalación militar de microbiología el 2 de abril de año mencionado.

Una conclusión importante de las observaciones comentadas es que el periodo de incubación correspondiente al carbunco por inhalación es de dos a 43 días, con una media de nueve a 10 días.

Se hicieron necropsias en 42 de las personas que fallecieron y se identificaron necrosis hemorrágica de ganglios linfáticos torácicos y mediastinitis hemorrágica.

En 1992, Boris Yeltsin, para ese entonces presidente de Rusia afirmó que no se habían activado en la mañana del 3 de abril de 1979 los filtros de aire de la instalación militar comentada y así se produjo la propagación involuntaria de esporas de *B. anthracis* en el entorno. Nunca se supo si la contaminación se produjo el 2 de abril, como lo indicaron los registros de dirección de vientos, o el 3 de abril como señaló la afirmación de Yeltsin.

En épocas ulteriores se practicó reacción en cadena de polimerasa en tejidos de las muestras de necropsia. Se utilizaron cebadores para detectar la región variable del gen *vrrA* del cromosoma de *B. anthracis* y dicho gen tiene una función desconocida. Incluye cinco categorías con número variable de repeticiones en tándem (VNTR, *variable number of tandem repeats*). Se identificó en cada cepa de *B. anthracis* solamente una categoría de VNTR. Los resultados del análisis de VNTR indicaron que en las muestras de tejido se detectaron, como mínimo, cuatro de las cinco categorías de las cepas conocidas.

REFERENCIAS

Abramova FA et al: Pathology of inhalation anthrax in 42 cases from the Sverdlovsk outbreak of 1979. Proc Natl Acad Sci U S A 1993;90:2291. [PMID: 8460135]

Jackson PJ et al: PCR analysis of tissue samples from the 1979 Sverdlovsk anthrax victims: The presence of multiple *Bacillus anthracis* strains in different victims. Proc Natl Acad Sci U S A 1998;95:1224. [PMID: 9448313]

Meselson M et al: The Sverdlovsk anthrax outbreak of 1979. Science 1994;266:1202. [PMID: 7973702]

Preparación de Irak para la guerra biológica

La *United Nations Special Commission* (UNSCOM) y la *International Atomic Energy Agency* (IAEA) investigaron las armas que poseía Irak, para destrucción masiva, de 1991 a 1998. Se hizo un resumen de sus señalamientos abiertos y de experiencias personales adicionales, que se presentarán en forma breve.

El programa de guerra biológica en Irak comenzó en la década de 1970 y se amplió en 1985. Se estudiaron dos bacterias patógenas. En el caso de *B. anthracis* las autoridades produjeron unos 8 000 L de solución con una espora y un número de microorganismos de 10^9/ml; 6 000 L se utilizaron para llenar las armas. El segundo patógeno fue *C. perfringens* (caps. 11 y 20) y con él se produjeron 340 L de la solución.

Se estudiaron cinco virus: de ellos se declaró que no eran idóneos dos variedades que constituyeron las de la fiebre amarilla (cap. 38) y de la enfermedad hemorrágica del Congo-Crimea (cap. 38) porque necesitaban vectores. En 1990 se estudiaron el enterovirus 17 (cap. 36), el rotavirus humano (cap. 37) y el virus de la viruela de camello (cap. 34) y se interrumpió el desarrollo.

También se estudiaron toxinas. En el caso de la aflatoxina (hepatotoxina, nefrotoxina y carcinógeno), se produjeron hasta 2 200 L. En lo que concierne a la toxina botulínica, se generaron 20 000 L y 11 500 L se colocaron en los cabezales de los misiles escudo. El ricino es una toxina potente que se ha utilizado para asesinar personas y se produjeron 10 L de la solución concentrada. Se estudiaron micotoxinas de tricoteceno y se produjeron 20 ml.

En promedio, se produjeron 200 bombas con 160 kg que podían retener 85 L; 100 se llenaron con toxina botulínica, 50 con carbunco y siete con aflatoxina. Las bombas se distribuyeron en dos sitios. Irak tenía 800 misiles escudo provenientes de países del bloque soviético y 80 adicionales elaboradas en Irak. Contaban con un rango de 300 km de carga explosiva por cohete hasta de una tonelada métrica. Algunos fueron modificados para que su radio fuera de 600 km y una menor carga; en 25 se adaptaron cabezales biológicos, 13 con toxina botulínica, 10 con aflatoxina y dos con carbunco. Todos fueron colocados en sitios estratégicos, 10 en un profundo túnel ferroviario y 15 en orificios cavados en las márgenes del río Tigris.

Los sistemas posibles de liberación incluyeron cohetes de 122 mm que al parecer no fueron utilizados. Al parecer tampoco se utilizaron cientos de sistemas de dispersión de plaguicidas elaborados en Italia.

En marzo de 2003 Estados Unidos junto con Gran Bretaña y la concurrencia de otros países, invadieron Irak y el pretexto declarado fue que Irak contaba con armas de destrucción masiva. Previamente las autoridades de ese país señalaron que las habían destruido. En los meses anteriores de la invasión, los inspectores de las Naciones Unidas no detectaron arma alguna. Para la fecha en que se publica este texto no se han encontrado armas de destrucción masiva.

REFERENCIA

Zilinskas RA: Iraq's biological weapons: The past as future? JAMA 1997;278:418. [PMID: 9244334]

Comentarios

Se ha sugerido el uso de innumerables agentes o se han probado en actos de bioterrorismo o guerra. En la lista sobresalen cuatro de ellos: *B. anthracis,* carbunco; viruela; *Y. pestis*, peste y la toxina botulínica. Para la peste se necesita un vector que es la pulga,

y la dispersión de toxina botulínica es difícil. Sin embargo, siguen siendo graves problemas las enfermedades del carbunco y la viruela como lo señala la propagación accidental de aerosoles del carbunco en la instalación militar de microbiología en la Unión Soviética en 1979, los 22 casos de carbunco inducido por bioterrorismo en Estados Unidos en 2001 y el brote de viruela en Yugoslavia en 1972.

La Organización Mundial de la Salud ha calculado el número de víctimas que podrían causar un ataque hipotético con materiales biológicos de guerra. Si se supone que se liberan 50 kg del agente desde un aeroplano en una línea de 2 km en favor del viento en un centro poblacional de 500 000 personas, con el carbunco se podrían abarcar unos 20 km en dirección del viento y quedarían 125 000 personas incapacitadas y morirían unas 95 000.

En 2001 en Estados Unidos se hicieron grandes intentos para afrontar posibles incidentes en que se usaban agentes biológicos con fines bélicos. Pudo advertirse que las respuestas actuales y futuras que sean significativas obligarían a la utilización de importantes recursos de los gobiernos federal, estatal y local. Es esencial la enseñanza de la comunidad médica y también la del público y personas que elaboran las políticas públicas.

Conviene llegar a un consenso internacional que prohíba el empleo de armas biológicas como agentes de terrorismo o de guerra.

REFERENCIAS

Biological agents as weapons. JAMA 1997;278(5):347. [Entire issue.]

Cieslak TJ et al: Immunization against potential biologic agents. Clin Infect Dis 2000;30:843. [PMID: 10880299]

National symposium on medical and public health response to bioterrorism. Emerg Infect Dis 1999;5(4):491. [Entire issue.]

Índice alfabético

Los números de página seguidos por *f* y *c* corresponden a figuras y cuadros, respectivamente.

D

H

T

W

X

Y

Z



MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA MÉDICA

I. BACTERIAS

BACTERIAS AEROBIAS Y FACULTATIVAS

COCOS GRAMPOSITIVOS

Catalasa positivos

Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus intermedius
Staphylococcus lugdunensis
Staphylococcus saprophyticus
Staphylococcus

Catalasa negativos

Aerococcus
Enterococcus faecalis
Enterococcus faecium
Enterococcus
Gemella
Lactococcus
Leuconostoc
Pediococcus
Streptococcus agalactiae (grupo B)
Streptococcus canis (grupo G)
Streptococcus gallolyticus (grupo D, antes llamado *S. bovis*)
Streptococcus infantarius (grupo D, antes llamado *S. bovis*)
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus pyogenes (grupo A)
Estreptococos del grupo *viridans*
- *Streptococcus anginosus*
- *Streptococcus constellatus*
- *Streptococcus intermedius*
- *Streptococcus mitis*
- *Streptococcus mutans*
- *Streptococcus salivarius*
- *Streptococcus sanguis*

Abiotrophia (variante de los estreptococos desde el punto de vista nutricional)
Granulicatella (variante de los estreptococos desde el punto de vista nutricional)

COCOS GRAMNEGATIVOS

Moraxella catarrhalis
Neisseria gonorrhoeae
Neisseria meningitidis
Neisseria

BACILOS GRAMPOSITIVOS

Arcanobacterium
Bacillus anthracis
Bacillus cereus
Corynebacterium diphtheriae
Corynebacterium jeikeium
Corynebacterium
Corynebacterium urealyticum
Erysipelothrix rhusiopathiae
Gardnerella vaginalis
Gordonia
Listeria monocytogenes
Mycobacterium avium
Mycobacterium bovis
Mycobacterium chelonae
Mycobacterium fortuitum
Mycobacterium intracellulare
Mycobacterium kansasii
Mycobacterium leprae
Mycobacterium marinum
Mycobacterium tuberculosis
Mycobacterium
Nocardia asteroides
Rhodococcus equi
Tsukamurella

BACILOS GRAMNEGATIVOS

Enterobacterias

Citrobacter freundii
Citrobacter koseri
Citrobacter
Edwardsiella tarda
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae
Escherichia coli
Escherichia
Klebsiella oxytoca
Klebsiella granulomatis
Klebsiella pneumoniae
Klebsiella rhinoscleromatis
Morganella morganii
Proteus mirabilis
Proteus vulgaris
Providencia rettgeri
Providencia stuartti
Salmonella choleraesuis
Salmonella paratyphi A
Salmonella paratyphi B
Salmonella typhi
Serotipos de *Salmonella*
Serratia liquefaciens
Serratia marcescens
Shigella boydii
Shigella dysenteriae
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Yersinia enterocolitica
Yersinia pestis

Bacilos fermentadores, no enterobacterias

Especies de *Aeromonas*
Plesiomonas shigelloides
Pasteurella multocida
Vibrio cholerae
Vibrio parahaemolyticus
Vibrio

Bacilos no fermentadores, no enterobacterias

Acinetobacter
Alcaligenes
Brevundimonas
Burkholderia cepacia
Burkholderia mallei
Burkholderia pseudomallei
Chryseobacterium
Comamonas
Eikenella corrodens
Moraxella catarrhalis
Moraxella
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas fluorescens
Pseudomonas
Ralstonia pickettii
Roseomonas
Shewanella putrefaciens
Sphingobacterium
Sphingomonas
Stenotrophomonas maltophilia

OTROS BACILOS Y COCOBACILOS GRAMNEGATIVOS

Aggregatibacter Actinobacillus actinomycetemcomitans
Aggregatibacter (Haemophilus) aphrophilus
Arcobacter
Bartonella bacilliformis
Bartonella
Bordetella bronchiseptica
Bordetella parapertussis
Bordetella pertussis
Bordetella
Brucella
Campylobacter fetus
Campylobacter jejuni
Campylobacter
Capnocytophaga
Cardiobacterium hominis
Chlamydophila pneumoniae
Chlamydophila psittaci
Chlamydia trachomatis
Coxiella burnetii
Ehrlichia chaffeensis
Francisella tularensis
Haemophilus aegyptius
Haemophilus ducreyi
Haemophilus influenzae
Haemophilus parainfluenzae
Haemophilus
Helicobacter pylori
Kingella kingae
Legionella micdadei
Legionella pneumophila
Legionella
Orientia tsutsugamushi
Rickettsia akari
Rickettsia conorii
Rickettsia mooseri
Rickettsia prowazekii
Rickettsia rickettsii
Streptobacillus moniliformis

MICOPLASMAS

Mycoplasma genitalium
Mycoplasma hominis
Mycoplasma pneumoniae
Mycoplasma
Ureaplasma urealyticum

TREPONEMATÁCEAS (MICROORGANISMOS ESPIRALES)

Borrelia burgdorferi
Borrelia recurrentis
Leptospira interrogans
Treponema pallidum

BACTERIAS ANAEROBIAS

BACILOS GRAMNEGATIVOS

Grupo de *Bacteroides fragilis*
Bacteroides
Fusobacterium necrophorum
Fusobacterium nucleatum
Mobiluncus
Porphyromonas
Prevotella melaninogenica
Prevotella

COCOS GRAMNEGATIVOS

Veillonella parvula

BACILOS GRAMPOSITIVOS QUE NO PRODUCEN ESPORAS

Actinomyces israelii
Actinomyces
Bifidobacterium
Eggerthella
Eubacterium
Lactobacillus
Propionibacterium acnes
Propionibacterium

BACILOS GRAMPOSITIVOS QUE PRODUCEN ESPORAS

Clostridium botulinum
Clostridium difficile

(*Continuación del interior de la cubierta posterior*)

Clostridium perfringens
Clostridium tetani
Clostridium

COCOS GRAMPOSITIVOS
Peptococcus niger
Peptostreptococcus
Peptoniphilus

II. VIRUS

VIRUS DNA

Adenovirus
Mastadenovirus
Adenovirus humanos
Hepadnavirus
Orthohepadnavirus
Virus de la hepatitis B
Herpesvirus
Alfaherpesvirus
Simplexvirus
Herpesvirus B
Virus del herpes simple 1 y 2
Varicellovirus
Virus de varicela-zoster
Betaherpesvirus
Cytomegalovirus
Citomegalovirus
Roseolovirus
Herpesvirus humano 6 y 7
Gammaherpesvirus
Lymphocryptovirus
Virus de Epstein-Barr
Rhadinovirus
Herpesvirus humano 8
Papilomavirus
Papillomavirus
Papilomavirus humano
Parvovirus
Bocavirus
Bocavirus humano
Erythrovirus
Parvovirus humano B19
Poliomavirus
Polyomavirus
Virus BK, virus JC, virus de células de Merkel, SV40
Poxvirus
Molluscipoxvirus
Orthopoxvirus
Virus de enfermedad vacuna (vaccinia)
Virus de la viruela de los simios
Virus de la viruela (varicela)
Virus vaccinia
Parapoxvirus
Virus de ectima contagioso
Virus similar al de la enfermedad vacuna
Yatapoxvirus
Virus del molusco contagioso
Virus yabapox y tanapox

VIRUS RNA

Arenavirus
Arenavirus
Virus Junin
Virus de la coriomeningitis linfocítica
Virus de la fiebre de Lassa
Virus Machupo
Astrovirus
Astrovirus
Astrovirus humanos
Bornavirus
Bornavirus
Virus de la enfermedad de Borna
Bunyavirus
Hantavirus
Virus Hantaan
Virus de Seúl
Virus Sin Nombre
Nairovirus
Virus de la fiebre hemorrágica de Crimea y el Congo
Otros serogrupos
Orthobunyavirus
Serogrupo Bunyamwera
Serogrupo California
Otros serogrupos
Phlebovirus
Virus de la fiebre del valle de Rift
Virus de la fiebre de Sandfly
Calicivirus
Norovirus
Virus de Norwalk
Sapovirus
Virus similares al virus de Sapporo
Coronavirus
Coronavirus
Coronavirus humanos
Coronavirus SARS
Torovirus
Torovirus humanos
Filovirus
Ebolavirus
Virus Ébola
Marburgvirus
Virus de Marburgo
Flavivirus
Flavivirus
Arbovirus del grupo B, virus transmitido por mosquito, virus de la encefalitis, de la fiebre amarilla y del dengue
Virus de la encefalitis transmitida por garrapata
Hepacivirus
Virus de la hepatitis C
Hepevirus
Hepevirus
Virus de la hepatitis E
Ortomixovirus
Influenzavirus A, B
Virus de la influenza tipos A y B
Influenzavirus C
Virus C de la influenza
Paramixovirus
Respirovirus
Virus de la parainfluenza
Rubulavirus
Virus de la parotiditis
Virus de la parainfluenza
Morbillivirus
Virus del sarampión
Pneumovirus
Virus sincitial respiratorio
Henipavirus
Virus Hendra
Virus Nipah
Metapneumovirus
Metaneumovirus humanos
Picornavirus
Enterovirus
Coxsackievirus A
Coxsackievirus B
Echovirus
Enterovirus
Poliovirus
Hepatovirus
Virus de la hepatitis A
Parechovirus
Parechovirus
Rhinovirus
Virus del resfriado común
Reovirus
Coltivirus
Virus de la fiebre por garrapata de Colorado
Rotavirus
Rotavirus humanos
Retrovirus
Deltaretrovirus
Virus linfotrópicos T humanos 1 y 2
Gammaretrovirus
Retrovirus XMRV
Lentivirus
Virus de inmunodeficiencia humana 1 y 2
Rabdovirus
Lyssavirus
Virus de la rabia
Vesiculovirus
Virus de la estomatitis vesicular
Togavirus
Alphavirus
Arbovirus del grupo A, virus transmitido por mosquito, virus de la encefalitis equina
Rubivirus
Virus de la rubéola

VIRUS HUMANOS NO CLASIFICADOS

Virus de la hepatitis D

AGENTES NO CONVENCIONALES (PRIONES)

Agente de Creutzfeldt-Jakob

III. HONGOS

DERMATOFITOS

Epidermophyton floccosum
Microsporum canis
Microsporum gypseum
Microsporum
Trichophyton mentagrophytes
Trichophyton rubrum
Trichophyton tonsurans
Trichophyton verrucosum
Trichophyton

LEVADURAS Y HONGOS SEMEJANTES A LAS LEVADURAS

Candida albicans
Candida dubliniensis
Candida glabrata
Candida guilliermondii
Candida krusei
Candida lusitaniae
Candida parapsilosis
Candida tropicalis
Candida
Cryptococcus gattii
Cryptococcus neoformans
Geotrichum
Malassezia
Pneumocystis jiroveci
Rhodotorula
Saccharomyces
Trichosporon

HONGOS DIMÓRFICOS

Blastomyces dermatitidis
Coccidioides immitis
Coccidioides posadasii
Histoplasma capsulatum
Paracoccidioides brasiliensis
Penicillium marneffei
Sporothrix schenckii

MOHOS HIALINOS

Acremonium
Aspergillus flavus
Aspergillus fumigatus
Aspergillus lentulus
Aspergillus niger
Aspergillus terreus
Aspergillus
Scedosporium apiospermum
Fusarium
Paecilomyces
Pseudallescheria boydii

MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA MÉDICA (*Continuación*)

HONGOS DEMATIÁCEOS
- *Alternaria*
- *Aureobasidium*
- *Bipolaris*
- *Cladophialophora bantiana*
- *Cladophialophora*
- *Cladosporium*
- *Curvularia*
- *Exophiala*
- *Exserohilum*
- *Fonsecaea pedrosoi*
- *Fonsecaea*
- *Hortaea werneckii*
- *Madurella*
- *Phialophora verrucosa*
- *Phialophora*
- *Piedraia hortai*
- *Rhinocladiella aquaspersa*
- *Scedosporium prolificans*
- *Wangiella dermatitidis*

Cigomicetos
- *Absidia*
- *Cunninghamella*
- *Mucor*
- *Rhizomucor*
- *Rhizopus oryzae*
- *Rhizopus*

IV. PARÁSITOS

PROTOZOOS

Amebas
- *Acanthamoeba castellanii*
- *Acanthamoeba*
- *Balamuthia mandrillaris*
- *Endolimax nana*
- *Entamoeba dispar*
- *Entamoeba histolytica*
- *Entamoeba moshkovskii*
- *Entamoeba*
- *Hartmanella*
- *Iodamoeba butschlii*
- *Naegleria fowleri*

Ciliados
- *Balantidium coli*

Flagelados
- *Giardia lamblia*
- *Leishmania braziliensis*
- *Leishmania donovani complex*
- *Leishmania major*
- *Leishmania mexicana complex*
- *Leishmania tropica*
- *Leishmania*
- *Trichomonas vaginalis*
- *Trypanosoma brucei gambiense*
- *Trypanosoma brucei rhodesiense*
- *Trypanosoma cruzi*

Esporozoarios
- *Babesia microti*
- *Cryptosporidium hominis*
- *Cryptosporidium parvum*
- *Cyclospora cayetanensis*
- *Plasmodium falciparum*
- *Plasmodium malariae*
- *Plasmodium ovale*
- *Plasmodium vivax*
- *Toxoplasma gondii*

MICROESPORAS
- *Bracheola*
- *Encephalitozoon cuniculi*
- *Encephalitozoon hellum*
- *Encephalitozoon intestinalis*
- *Encephalitozoon*
- *Enterocytozoon bieneusi*
- *Nosema*
- *Pleistophora*
- *Trachipleistophora hominis*
- *Vittaforma corneae*

HELMINTOS

Cestodos
- *Diphyllobothrium latum*
- *Dipylidium caninum*
- *Echinococcus granulosus*
- *Hymenolepis nana*
- *Taenia saginata*
- *Taenia solium*

Nematodos
- *Ancylostoma duodenale*
- *Ancylostoma caninum*
- *Anisakis simplex*
- *Ascaris lumbricoides*
- *Baylisascaris procyonis*
- *Brugia malayi*
- *Dracunculus medinensis*
- *Enterobius vermicularis*
- *Necator americanus*
- *Onchocerca volvulus*
- *Strongyloides stercoralis*
- *Toxocara canis*
- *Trichinella spiralis*
- *Trichuris trichiura*
- *Wuchereria bancrofti*

Trematodos
- *Clonorchis sinensis*
- *Fasciola hepatica*
- *Fasciolopsis buski*
- *Paragonimus westermani*
- *Schistosoma haematobium*
- *Schistosoma japonicum*
- *Schistosoma mansoni*

REFERENCIAS: Garcia LS: *Diagnostic Medical Parasitology*, 5th ed. American Society for Microbiology, 2007; Mitchell TG: Kingdom fungi: fungal phylogeny and systematics. En: *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Medical Mycology*, 10th ed. Merz WG, Hay RJ (editors). Hodder Arnold, London, 2005.